

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
STÉPHANIE MOREAU

IMPORTANCE DES MILIEUX RURAUX DANS LA TRANSMISSION DE
MALADIES ÉMERGENTES TRANSMISES PAR LES MOUSTIQUES,
PLUS PARTICULIÈREMENT LE CAS DU VIRUS DU NIL OCCIDENTAL

FÉVRIER 2011

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le Conseil de recherche en sciences naturelles et génie du Canada, l'Université du Québec à Trois-Rivières et GDG Environnement pour le soutien financier.

Je tiens à remercier chaleureusement mon directeur de recherche, le professeur Jacques Boisvert. Sans lui, cette recherche n'aurait pu avoir lieu et n'aurait peut-être jamais été complétée. Je remercie également mon co-directeur de recherche, Jean-Pierre Bourassa et les membres de mon comité d'orientation Guy Charpentier et Mario Boisvert pour leurs précieux conseils tout au long de cette étude. Finalement, je remercie Mathieu Langevin pour la précieuse aide apportée lors de la collecte de données et de l'identification.

Je tiens également à souligner la participation de la Ville de Louiseville, de ses citoyens, et des agriculteurs. Leur gentillesse et le vif intérêt qu'ils ont porté à mes recherches étaient toujours un plaisir.

Finalement, cette maîtrise n'aurait pu être réalisée sans le soutien de ma famille, de mes amis et particulièrement de mon conjoint, Janick. Sans être impliqués directement dans mes recherches, ils ont fait en sorte que tout ceci soit possible grâce à leur compréhension, leurs encouragements et leur amour. Merci de tout cœur!

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ii
LISTE DES FIGURES ET TABLEAU.....	iv
LISTE DES ABRÉVIATIONS	v

CHAPITRE 1

INTRODUCTION.....	1
1.1 Contexte de la recherche.....	1
1.2 Problématique	5
1.3 Objectifs.....	7
1.4 Méthodologie.....	8
1.5 Résultats.....	10
1.6 Discussion.....	13
1.7 Conclusion.....	16
1.8 Références bibliographiques.....	17

CHAPITRE 2

ARTICLE SCIENTIFIQUE	21
Résumé.....	22
Abstract	22
Introduction.....	23
Materials and methods	25
Results.....	27
Discussion	29
Acknowledgements.....	35
References.....	36
Annexe 1 : Instructions aux auteurs	48
Annexe 2 : Preuve de soumission de l'article	55
Annexe 3 : Contribution spécifique des auteurs.....	56

LISTE DES FIGURES ET TABLEAU

Figure	Page
1.1 Cycle de transmission du virus du Nil occidental	2
1.2 Carte de l'incidence par million du VNO aux États-Unis en 2003	6
1.3 Carte de l'incidence par million du VNO aux États-Unis en 2007	6
1.4 Espèces de moustiques retrouvées en fonction de la semaine CDC en milieu rural à Louiseville (Québec) en 2009	11
1.5 Espèces de moustiques retrouvées en fonction de la semaine CDC en milieu urbain à Louiseville (Québec) en 2009.....	12
1.6 Espèces de moustiques retrouvées en fonction des différents gîtes reproducteurs potentiels en milieu rural à Louiseville (Québec) en 2009.....	13
1.7 Espèces de moustiques retrouvées en fonction des différents gîtes reproducteurs potentiels en milieu urbain à Louiseville (Québec) en 2009	14

Tableau	
1.1 Espèces de moustiques vecteurs du VNO ciblées lors de l'identification.....	9

LISTE DES ABRÉVIATIONS

<i>Ae</i>	<i>Aedes</i>
<i>An</i>	<i>Anopheles</i>
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
<i>Cx</i>	<i>Culex</i>
MAPAQ	Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation
<i>Oc</i>	<i>Ochlerotatus</i>
SOPFIM	Société de protection des forêts contre les insectes et les maladies
VNO	Virus du Nil occidental
WNV	West Nile Virus

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

1.1 Contexte de la recherche

Le Québec a toujours été protégé de nombreuses maladies infectieuses qui affectent les pays tropicaux. Notre climat rigoureux y est pour quelque chose puisqu'il affecte les agents pathogènes ainsi que les espèces susceptibles d'agir comme vecteurs de maladies. Dans le nouveau contexte mondial où les changements climatiques sont devenus une réalité, nous devons nous préparer à affronter l'émergence de nouvelles maladies. Le réchauffement global a entre autres affecté de nombreuses espèces de moustiques qui commencent à étendre leur distribution vers le nord, se retrouvant à des endroits où elles n'avaient jamais été répertoriées.

Le virus du Nil occidental (VNO) est transmis par la piqûre d'un moustique infecté. Ce moustique a lui-même acquis le virus en piquant un hôte infecté. On qualifie cette transmission d'horizontale. Dans la nature, le VNO se maintient dans un cycle qui inclut des moustiques ornithophiles et bien sûr des oiseaux (Figure 1.1) (Hayes *et al.*, 2005). Comme certains oiseaux sont particulièrement affectés par le virus, ces derniers développent de hauts taux de virémies et constituent un bassin où le virus peut se répliquer et se maintenir (Hubàlek et Halouzka, 1999). Occasionnellement, un moustique infecté va modifier ses habitudes alimentaires et piquer un humain, lui transmettant ainsi la maladie. On appellera ce moustique un vecteur passerelle. Seules les espèces de moustiques qui peuvent répliquer le virus et assurer son passage aux glandes salivaires via l'hémolymphe sont des vecteurs potentiels. Puisque les mammifères ne développent pas une virémie suffisante pour infecter les moustiques, ils constituent des hôtes terminaux (Komar, 2000). Plusieurs études ont démontré qu'il existe également une transmission verticale, c'est-à-dire de la femelle moustique à ses

œufs (Miller *et al.*, 2000; Nasci *et al.*, 2001; Anderson *et al.*, 2006; Anderson et Main, 2006; Reisen *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2008).

La maladie peut prendre plusieurs formes. Le VNO est reconnu pour affecter principalement les cellules neurales (Burke *et al.*, 2004). La plupart des individus infectés sont asymptomatiques. C'est le cas d'environ 80 % des individus infectés qui ne seront jamais diagnostiqués. Après une période d'incubation de 2-14 jours, certains patients développent une maladie qui ressemble à une grippe dans 20 % à 40 % des cas. Les patients atteints par le VNO peuvent présenter un ou plusieurs de ces symptômes : fièvre, maux de tête, myalgie, fatigue, rougeurs, vomissements, diarrhée... Moins de 1 % des individus infectés développeront une maladie neuroinvasive sévère, soit une méningite, une encéphalite ou une paralysie flasque aiguë (Hayes et Gubler, 2006). Dans les cas sévères d'infection, la létalité varierait de 4 à 14 % et elle serait supérieure chez les patients âgés de plus de 50 ans (Hayes, 2001).

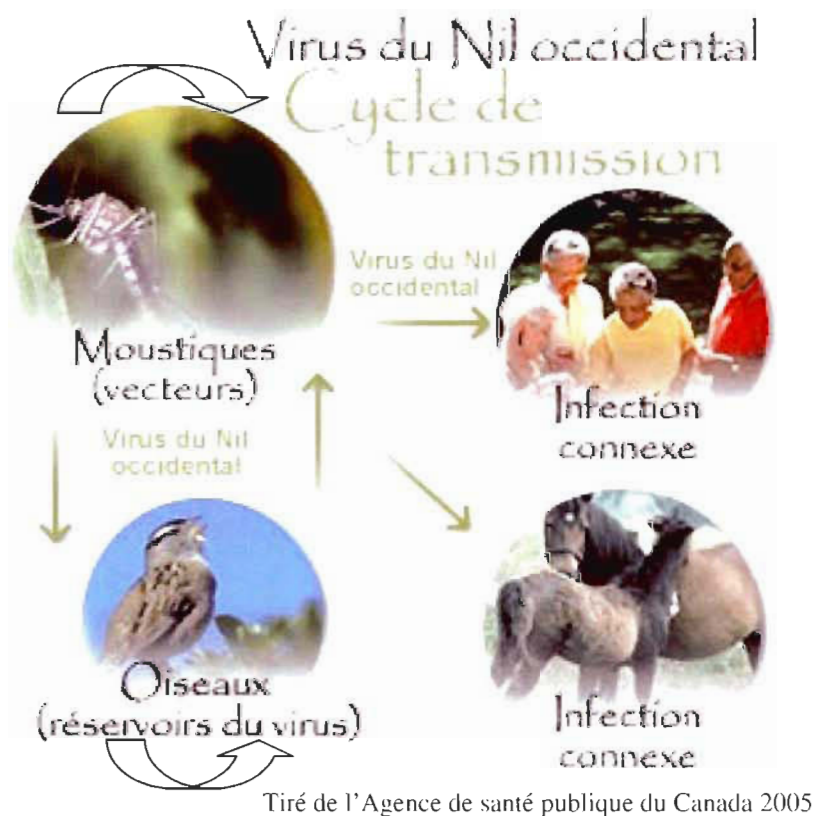


Figure 1.1 : Cycle de transmission du virus du Nil occidental

La transmission du virus peut également se faire par une transfusion de sang ou un don d'organe. Il est également possible de le transmettre de façon intra-utérine et par le lait maternel (Centers for Disease Control and Prevention (CDC) 2002a, CDC 2002b). Les seuls vaccins disponibles actuellement sont pour les chevaux et les oies domestiques. Aucun vaccin n'a encore été approuvé pour une utilisation humaine. De plus, il n'y a aucun traitement spécifique pour le VNO chez l'humain actuellement. Par contre, des études cliniques sont en cours pour approuver un vaccin pour une utilisation humaine (Kramer *et al.*, 2008).

Le VNO a été détecté pour la première fois en Amérique du Nord dans la ville de New York en septembre 1999. Un grand nombre d'oiseaux morts ou malades ont été retrouvés au zoo du Bronx, ainsi que plusieurs patients humains souffrant d'encéphalite d'origine inconnue (Lanciotti *et al.*, 1999). Cette épidémie a été responsable de 62 cas d'encéphalite, incluant 7 morts, tous de la région de New York, ainsi que de milliers d'oiseaux de 18 espèces différentes (CDC, 1999). La corneille d'Amérique (*Corvus brachyrhynchos*) et le geai bleu (*Cyanocitta cristata*) sont parmi les espèces les plus affectées (Komar *et al.*, 2003). Il est à noter que les épidémies précédentes en Europe, en Afrique et au Moyen-Orient n'étaient pas caractérisées par une mortalité aviaire aussi significative (Hubàlek et Halouzka, 1999; Komar, 2000). Il est probable que cette forte mortalité chez les oiseaux d'Amérique du Nord soit due à une absence d'immunité ainsi qu'à une évolution du virus en une souche plus virulente (Brault *et al.*, 2004).

Après la première saison de l'épidémie, lorsque les moustiques sont entrés en dormance pour l'hiver, les spéculations sur l'avenir du VNO allaient bon train. La théorie majeure stipulait que les oiseaux migrateurs devaient transporter le virus plus au sud pour lui permettre de passer l'hiver et de revenir au printemps par d'autres oiseaux migrateurs. Selon ce scénario, le virus aurait pu ne pas survivre sans avoir trouvé ces hôtes possibles (Rappole *et al.*, 2000). Ainsi à l'hiver, plusieurs états du sud ont recherché le virus chez les oiseaux morts, sans résultats. Aucun oiseau positif au VNO n'a été retrouvé dans les états du sud à l'hiver 1999-2000. Mais le virus a bel et bien réapparu au printemps 2000. Étonnamment, on a retrouvé les premiers cas de VNO au nord-est des États-Unis, autour de l'épicentre de l'épidémie de 1999. Cette situation

laissait entendre que le virus ne dépendait pas nécessairement des oiseaux migrateurs pour survivre à l'hiver (Rappole *et al.*, 2000).

L'expansion s'est continuée en 2000. Si l'on assume que le virus est arrivé à New York le 1^{er} juin 1999 et que la saison d'infection va du 15 avril au 15 novembre dans les états de l'Atlantique, le virus a voyagé à une vitesse d'environ 67 km par mois (Rappole et Hubàlek, 2003). Le virus n'a pris que 5 ans pour se disperser à travers les États-Unis. Alors que la plupart des chercheurs s'attendaient à une dispersion du nord vers le sud et vice-versa par les oiseaux migrateurs, on a plutôt assisté à une transmission de l'est vers l'ouest.

Plusieurs hypothèses ont été émises quant à l'entrée probable du virus en Amérique du Nord. La plus probable serait que le virus aurait traversé grâce à un oiseau infecté. Puisque la souche retrouvée à New York est très semblable génétiquement à celle retrouvée à Israël, un oiseau infecté importé de cette région serait la façon la plus probable (Anderson *et al.*, 1999; Lanciotti *et al.*, 1999).

Les oiseaux les plus touchés par le VNO en Amérique du Nord sont les corvidés. La quantité de virus retrouvée dans leur sang est la plus importante (Komar *et al.*, 2003). Ils ont une très bonne capacité à transmettre le virus aux moustiques et réagissent très fortement au virus, ce qui entraîne une très forte mortalité en milieu naturel. C'est pourquoi plusieurs gouvernements ont basé leurs programmes de surveillance du VNO sur la collecte de corvidés morts. La mort peut survenir en moins de 4 jours, ce qui limite grandement la transmission du virus. En effet, les moustiques ne piqueront pas un oiseau mort (Komar *et al.*, 2003). L'ordre des passériformes en général est compétent pour la transmission du VNO, ainsi que les charadriiformes, les falconiformes et les strigiformes (Komar *et al.*, 2003).

C'est en 2002 que le VNO a pour la première fois été détecté au Québec. On le retrouve tout d'abord dans les populations de corneilles puis chez les premiers humains (20 au Québec). En 2003, on rapporte 17 cas au Québec, et ces derniers se retrouvent à Montréal, en Montérégie, à Laval, à Lanaudière et au Saguenay-Lac-Saint-Jean. Par la

suite, les cas humains au Québec vont en diminuant d'année en année, jusqu'à tomber à zéro en 2007.

Une soixantaine d'espèces de moustique se retrouve au Québec. Par contre, ce ne sont pas toutes les espèces qui sont de bons vecteurs du VNO. Dans le monde, le virus a été isolé à partir de 43 espèces de moustiques. Au Québec, on ne retrouve qu'une dizaine d'espèces de moustiques susceptibles de propager le VNO.

1.2 Problématique

Lorsqu'on étudie les données de l'épidémie de VNO aux États-Unis de 1999 à 2009, on remarque qu'une des zones où il y a eu le plus grand nombre de cas est la Californie. Depuis 2002, la Californie a comptabilisé 2713 cas humains confirmés de VNO. Par contre, la Californie est l'état le plus peuplé des États-Unis. Si l'on observe plutôt le taux d'incidence, c'est-à-dire le nombre de cas par personne (par exemple par million de personnes), on remarque que les états les plus touchés sont les états que l'on retrouve au centre des États-Unis, tel que le Minnesota, l'Iowa ou le Missouri et les états qui les bordent (Figures 1.2 et 1.3). Ces états sont constitués en grande partie de régions rurales puisqu'on y pratique l'agriculture sur presque tout le territoire. Vu sous cet angle, les régions rurales semblent fortement à risque en ce qui a trait au VNO. Au Canada, les régions où l'épidémie de VNO a été la plus forte sont les prairies, où on exerce également une agriculture intensive. La Saskatchewan a connu le plus grand nombre de cas de VNO au Canada durant l'été 2003. Une étude a été conduite dans la région de Five Hills, située au centre sud de la Saskatchewan, durant laquelle 501 échantillons de sang ont été testés (Schellenberg *et al.*, 2006). De ces 501 échantillons, 50 ont été trouvés positifs au VNO, ce qui entraîne un taux de séroprévalence de 9,98 %, le plus haut jamais rencontré. De cette étude on apprend également que les résidents des milieux ruraux ont six fois plus de chance d'être testés positifs au VNO comparativement aux résidents des milieux urbains (Schellenberg *et al.*, 2006). La région de Five Hills est constituée de pâturages où l'on retrouve généralement un excellent vecteur du VNO, *Culex tarsalis*.

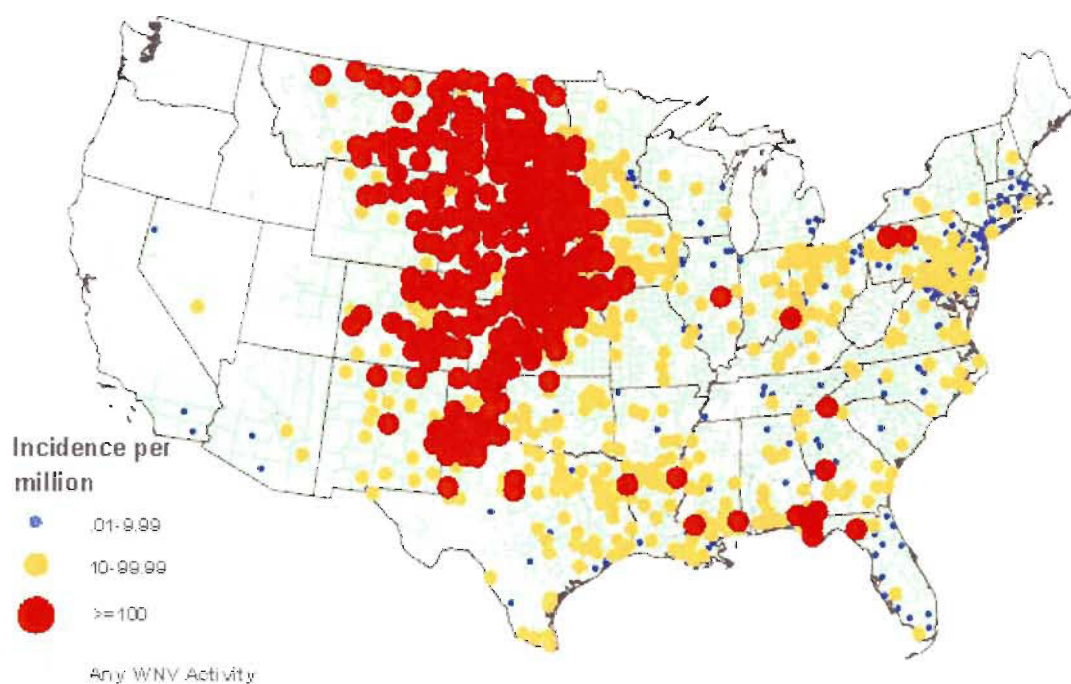


Figure 1.2 : Carte de l'incidence par million du VNO aux États-Unis en 2003

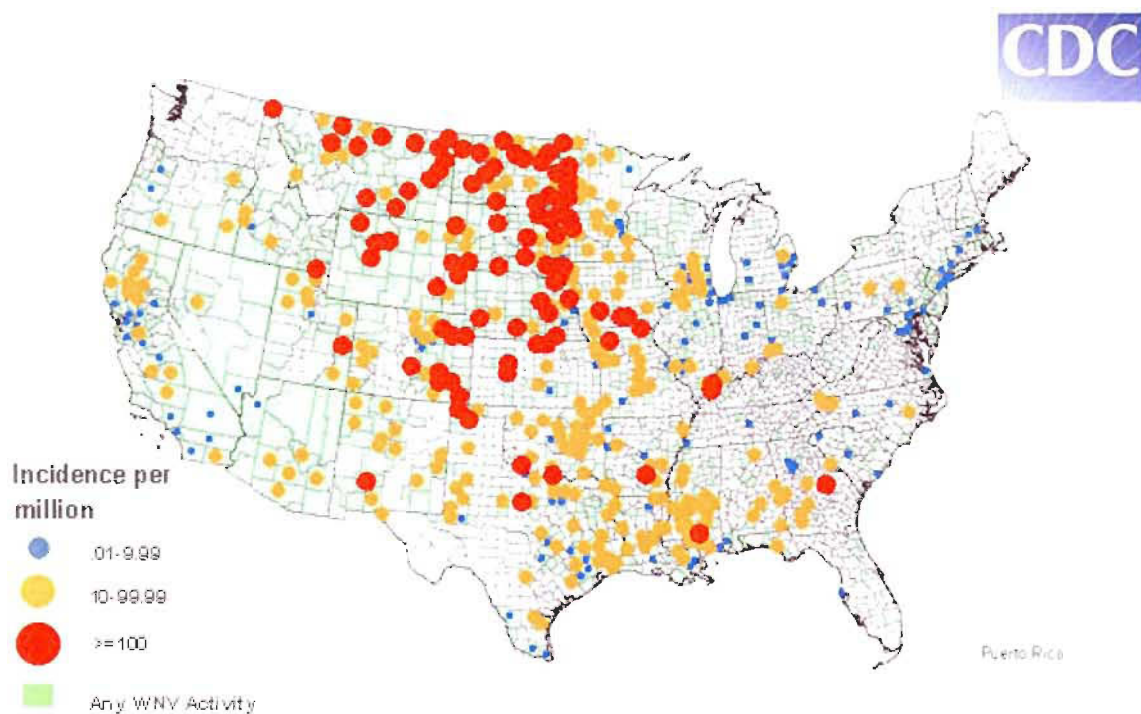


Figure 1.3 : Carte de l'incidence par million du VNO aux États-Unis en 2007

Une étude effectuée dans la région de Chicago a démontré qu'une région est plus susceptible d'inclure au moins un cas de VNO si elle a une population plus faible (Ruiz *et al.*, 2004). Une étude effectuée dans l'état de New York en 2001 et 2002 a également démontré l'importance des pneus sur les fermes laitières comme gîtes reproducteurs pour des espèces considérées comme de très bons vecteurs du VNO tels *Culex spp.* et *Ochlerotatus japonicus* (Kaufman *et al.*, 2005).

Dans le contexte du réchauffement climatique qui affecte aujourd'hui la planète, il devient important d'étudier différentes maladies transmises par des insectes qui étaient jusqu'alors cantonnés dans des régions plus chaudes. Le comportement du VNO est un bon exemple de ce qui arrive lorsqu'un virus est nouvellement introduit dans une région. Le VNO a été qualifié de maladie urbaine. Par contre, les zones à fortes incidences se retrouvent dans des régions typiquement rurales. Il suffit de regarder l'exemple de la Saskatchewan, qui a eu le plus haut taux d'incidence du VNO. Malheureusement, très peu d'études ont porté sur les milieux ruraux, par conséquent on dispose de peu de données en cas d'épidémie.

1.3 Objectifs

Le premier objectif de mon projet de maîtrise est de déterminer l'évolution des populations (présence dans les gîtes en fonction du temps) de moustiques impliquées dans la transmission du VNO durant la période critique, soit de juin à septembre. Et ce, dans un milieu typiquement rural situé en périphérie de la municipalité de Louiseville.

Un deuxième objectif est de déterminer l'évolution des populations de moustiques ciblées durant la période critique mais ce, dans la municipalité de Louiseville proprement dite (zone urbaine).

Finalement, un dernier objectif sera de comparer les populations en termes d'espèces, de densité larvaire, de gîtes reproducteurs, afin de déterminer si les zones rurales sont plus ou moins à risque que les zones urbaines.

1.4 Méthodologie

La collecte de spécimens a débuté à l'été 2008 et a été poursuivie à l'été 2009. Les spécimens sont collectés lors de la période critique des épidémies de VNO, soit de juin à septembre. Les larves sont collectées en différents endroits, tant dans le milieu rural que dans le milieu urbain.

En milieu rural, environ 15 fermes ont été sélectionnées selon leur emplacement, leur grosseur et le type d'élevage. Nous couvrons ainsi une grande surface autour de la ville de Louiseville. Les fermes choisies sont suffisamment grandes pour contenir au minimum dix animaux. De plus, après avoir effectué des recherches sur le terrain, les fermes aviaires ont été exclues, car les propriétaires refusaient de participer au projet en raison des restrictions gouvernementales causées par la menace de la grippe aviaire. Aucun échantillon n'est pris à l'intérieur des bâtiments. Des pièges à moustiques adultes (CDC Light Trap) ont également été disposés sur 5 différentes fermes à l'été 2009 et la capture des moustiques adultes se fera à des intervalles de 4 semaines.

En zone urbaine, deux milieux différents sont échantillonnés, soit les cours arrière des résidences et les puisards. La ville de Louiseville a été divisée en quatre zones résidentielles pour faciliter la logistique. Ces zones se caractérisent par un nombre à peu près équivalent de résidences unifamiliales. Les entreprises et les résidences multifamiliales sont évitées, car les propriétaires sont rarement sur place pour accorder la permission de visiter la cour arrière. Chaque jour, un secteur différent est échantillonné rue par rue, pour s'assurer que les émergences des différentes espèces sont couvertes.

Lors de la collecte de spécimens, différentes données sont également notées telles que le type de gîte et la densité larvaire relative. Cette densité larvaire est déterminée grâce à un indice d'abondance larvaire variant de 1 à 6. Cet indice est évalué visuellement. Il s'agit du même indice de densité larvaire utilisé par la Société de protection des forêts contre les insectes et les maladies lors de leur étude sur les gîtes à

Culex en milieu urbain (SOPFIM, 2005). Pour ce qui est des puisards, la température de l'eau est également notée.

Tableau 1.1

Espèces de moustiques vecteurs du VNO ciblées lors de l'identification

Espèce (Nom latin)	Abondance relative au Québec
<i>Culex pipiens</i>	++++
<i>Culex restuans</i>	++++
<i>Aedes vexans</i>	+++++
<i>Ochlerotatus triseriatus</i>	+++
<i>Coquilletidia perturbans</i>	++++
<i>Anopheles punctipennis</i>	+++
<i>Ochlerotatus canadensis</i>	+++
<i>Ochlerotatus japonicus</i>	+
<i>Ochlerotatus stimulans</i>	++++
<i>Culiseta inornata</i>	+
<i>Culiseta morsitans</i>	+
<i>Aedes albopictus</i>	-
<i>Culex tarsalis</i>	-
<i>Culex salinarius</i>	-

(-) Espèce de moustique non établie mais pouvant se retrouver au Québec

Les larves sont conservées dans l'éthanol à 95 %. Puisque la collecte des spécimens comprend toutes les larves en mesure d'être capturées, certaines ont été amenées jusqu'au 4^e stade larvaire pour permettre leur identification. Ces larves sont conservées dans de l'eau déminéralisée et nourries avec de la poudre de foie jusqu'à ce qu'elles atteignent le 4^e stade larvaire. Elles sont ensuite plongées dans l'éthanol pour assurer leur conservation. Les adultes ont d'abord été conservés au congélateur puis montés sur une aiguille entomologique pour faciliter leur identification. Tous les spécimens ont ensuite été identifiés à l'aide de la clé d'identification de Richard F. Darsie : *Identification and Geographical Distribution of the Mosquitoes of North America, North of Mexico* de Richard F. Darsie (Darsie et Ward, 2005).

1.5 Résultats

En zone urbaine, le gîte reproducteur dans lequel des larves ont été retrouvées le plus souvent, ce sont les pneus usagés (Figure 3, page 44). Ces gîtes reproducteurs contenaient de l'eau dans 75,0 % des cas et avaient des larves dans 28,9 % des cas. Plus de 500 puisards ont été échantillonnés et même si 80,4 % avaient de l'eau, seulement 3,0 % contenaient des larves.

En zone rurale, le gîte reproducteur dans lequel des larves ont été retrouvées le plus souvent est également les pneus usagés (Figure 4, page 45). De façon générale, les gîtes reproducteurs potentiels étaient plus souvent colonisés en milieu rural qu'en milieu urbain. Puisqu'en milieu rural 71,5 % des gîtes reproducteurs potentiels n'avaient pas de larves en 2008-2009, 28,5 % des gîtes reproducteurs avaient des larves (Table 1, page 47). En milieu urbain, seulement 6,0 % des gîtes reproducteurs avaient des larves.

Dans les deux zones, les faibles densités relatives (1, 2 et 3) étaient retrouvées plus fréquemment que les fortes densités relatives (3, 4 et 5) (Table 1, page 47). Par contre, des densités relatives de 500 larves et plus n'ont jamais été retrouvées en milieu urbain, mais ont été retrouvées 11 fois en milieu rural.

Dans les deux zones, l'espèce rencontrée la plus fréquemment était *Culex restuans* (Figure 5, page 46). En milieu rural, *Cx pipiens* a été retrouvée en grande quantité comparativement au milieu urbain. De plus, *Ochlerotatus stimulans* a été retrouvée seulement en milieu rural, quoiqu'en un très faible pourcentage. On a retrouvé une plus grande proportion d'espèces considérées comme non-vectrices en milieu urbain qu'en milieu rural.

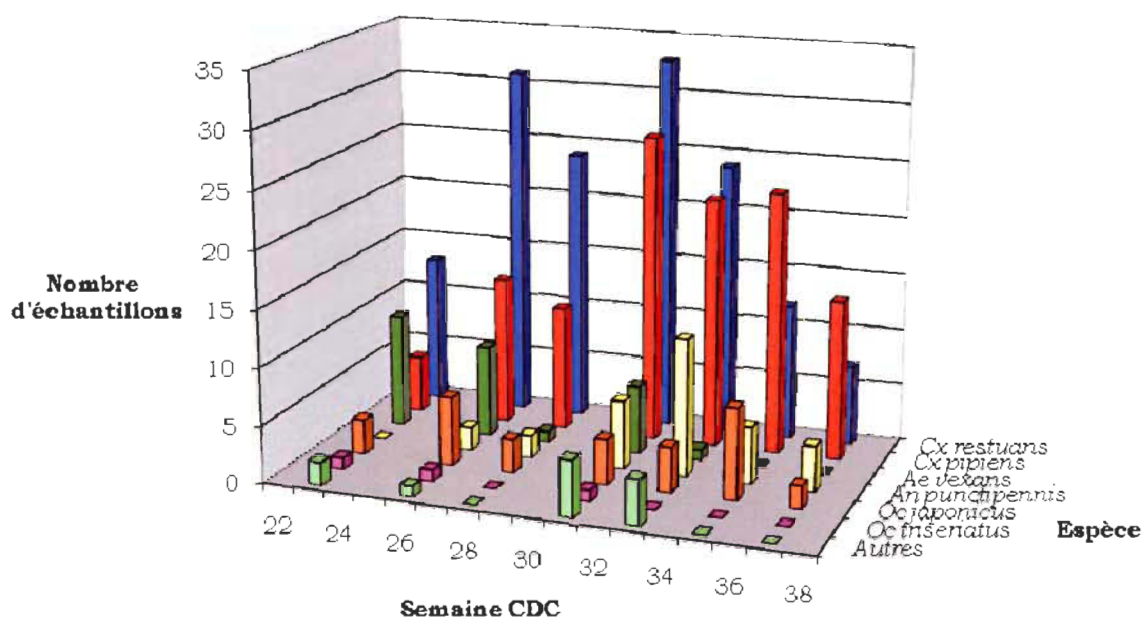


Figure 1.4 : Espèces de moustiques retrouvées en fonction de la semaine CDC en milieu rural à Louiseville (Québec) en 2009. La première semaine CDC correspond à la première semaine de janvier avec 7 jours et un dimanche.

Lorsqu'on regarde la répartition des espèces selon la semaine CDC en milieu rural, on remarque une transition entre la présence de *Cx restuans* et *Cx pipiens* (Figure 1.4). On retrouve *Cx restuans* en plus grande quantité au début de l'été, jusqu'à la semaine 31. À cette date, *Cx restuans* commence à décliner et *Cx pipiens* est dominante. Cette situation ne se voit pas en milieu urbain probablement en raison du peu de données disponibles (Figure 1.5).

En général, certaines espèces ont été retrouvées au début de l'été. C'est le cas d'*Aedes vexans*, *Oc triseriatus* et *Cx restuans*. D'autres espèces ont plutôt été retrouvées vers la fin de l'été. C'est le cas d'*Anopheles punctipennis*, et de *Cx pipiens*. *Oc japonicus* a quant à elle été retrouvée tout au long de l'été, dans les deux milieux (Figures 1.4 et 1.5).

Les espèces retrouvées dans les différents gîtes semblent démontrer qu'un grand gîte recueille une plus grande variété d'espèces. Les gîtes avec les plus grandes variétés d'espèces en milieu rural sont les pneus usagés, les contenants de 5-20 L et les contenants de plus de 20 L. Au contraire, les gîtes retrouvés avec une ou deux espèces sont les sacs de plastiques ou bâches et les contenants de moins de 5 L. En milieu urbain, les gîtes regroupant la plus grande variété d'espèces sont les contenants de plus de 20 L et les autres gîtes, c'est-à-dire ceux qui n'étaient retrouvés que rarement. Les gîtes retrouvés avec une ou deux espèces sont les sacs de plastiques ou bâches, les baignoires d'oiseaux, les jouets et les contenants de moins de 5 L.

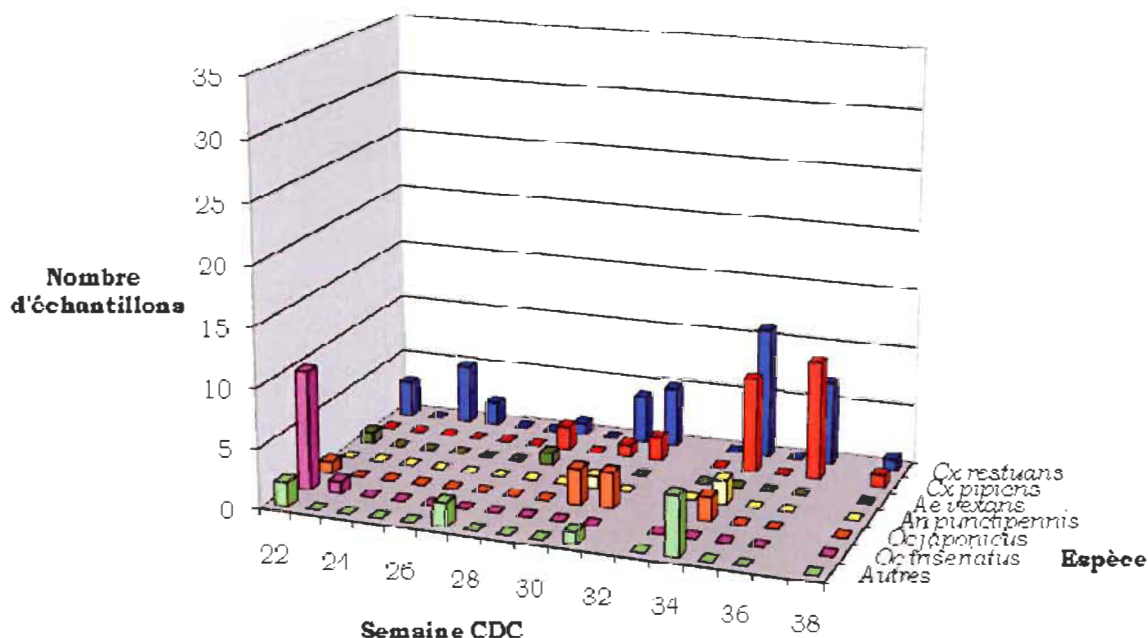


Figure 1.5 : Espèces de moustiques retrouvées en fonction de la semaine CDC en milieu urbain à Louiseville (Québec) en 2009

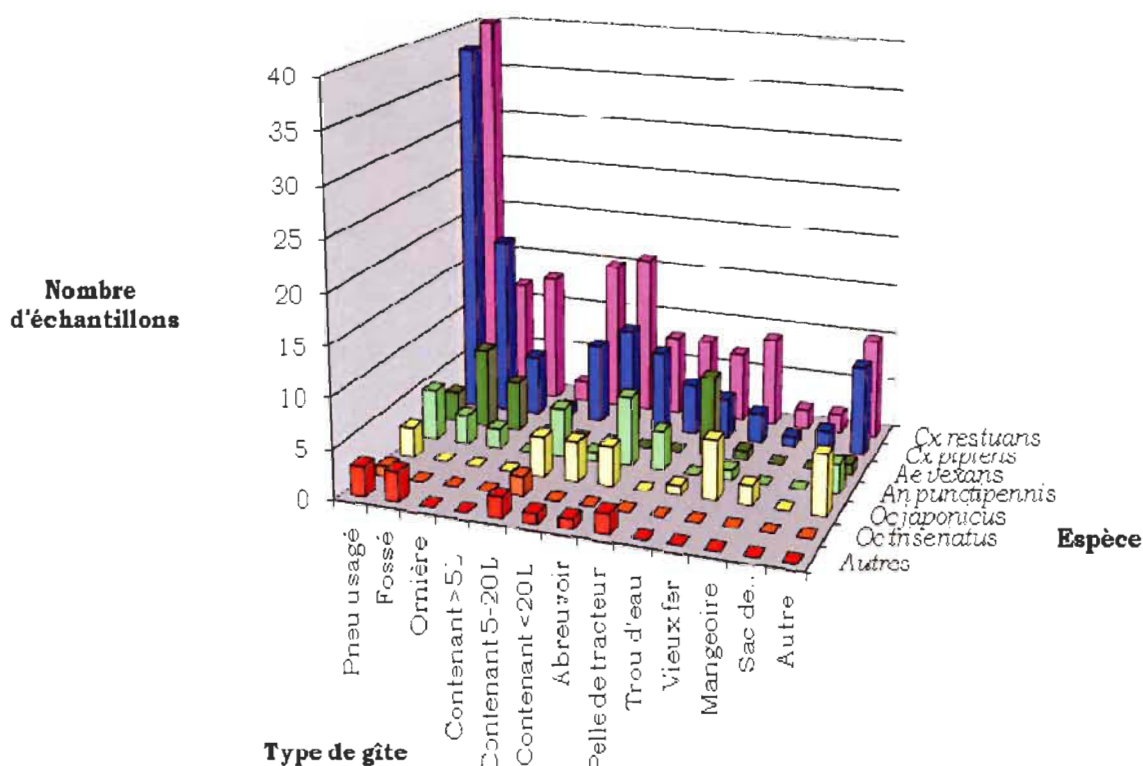


Figure 1.6 : Espèces de moustiques retrouvées en fonction des différents gîtes reproducteurs potentiels en milieu rural à Louiseville (Québec) en 2009

1.6 Discussion

Louiseville est une petite ville entourée par une vaste zone agricole (Figure 1, page 42). En zone urbaine, 36,6 % des cours arrière visitées possédaient au moins un gîte reproducteur avec des larves, mais en zone rurale, c'est 68,2 % des fermes visitées qui en possédaient au moins un. En zone urbaine, seulement 3,1 % des cours arrière visitées avaient plus de 2 gîtes reproducteurs avec larves, comparativement à 49,2 % des fermes. Jusqu'à 11 gîtes reproducteurs avec larves ont été retrouvés sur une seule ferme, comparativement à un maximum de 4 dans une cour arrière. En zone urbaine, il y avait une moyenne de 2,9 gîtes reproducteurs avec larves par maison. En zone rurale, il y avait une moyenne de 7,9 gîtes reproducteurs avec larves par ferme. La difficulté d'éliminer complètement les gîtes reproducteurs en milieu rural peut être expliquée par

le fait que ces gîtes font partie du matériel utilisé sur la ferme. Par exemple, plusieurs gîtes reproducteurs potentiels étaient des objets et de la machinerie entreposée à l'extérieur, comme des pneus ou des pelles de tracteur (Figure 2, page 43); les mangeoires et abreuvoirs ne peuvent être enlevés. Au contraire, les gens qui vivent en région urbaine ont tendance à éliminer les objets qui pourraient devenir des gîtes reproducteurs.

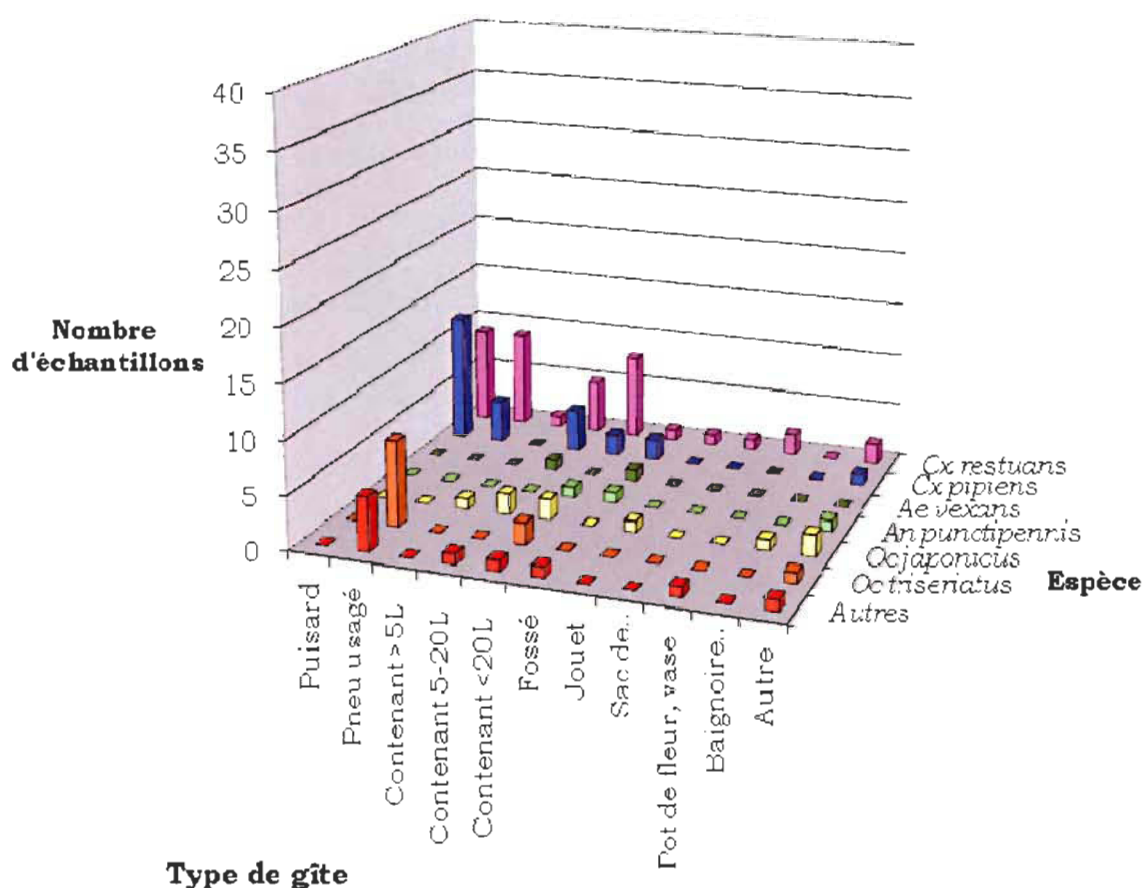


Figure 1.7 : Espèces de moustiques retrouvées en fonction des différents gîtes reproducteurs potentiels en milieu urbain à Louiseville (Québec) en 2009

Le gîte reproducteur retrouvé le plus fréquemment avec des larves était les pneus usagés (Figures 3 et 4, pages 44 et 45). Cet habitat est utilisé communément par 18 % des espèces de moustiques retrouvées en Amérique du Nord (Yee, 2008). En raison de leur

taille et de leur poids, il est beaucoup plus difficile de disposer d'un pneu de tracteur que d'un pneu d'auto. De plus, certaines fermes utilisent les pneus usagés; par exemple comme poids sur une bâche (Figure 2, page 43). Lorsque ces pneus ne sont pas utilisés, ils sont empilés au sol et deviennent d'excellents gîtes reproducteurs. Kaufman *et al.* (2005) ont étudié l'importance des pneus usagés empilés sur les fermes laitières de la région de New York et en sont venus à la conclusion qu'ils sont d'importants gîtes reproducteurs pour plusieurs espèces vectrices du VNO.

Une importante différence entre les milieux urbain et rural est la façon dont les eaux de pluie sont drainées. En région urbaine, on retrouve des puisards dans les rues, mais en milieu rural, ce sont des fossés qui se retrouvent dans les champs et sur le bord des routes. Contrairement à ce qui a été observé dans d'autres études (Geery et Holub 1989; Su *et al.*, 2003; Anderson *et al.*, 2006), peu de puisards contenaient des larves. Même si 80,4 % des puisards contenaient suffisamment d'eau pour être un gîte reproducteur, seulement 3,0 % contenaient des larves (Figure 3, page 44). Pour ce qui est des fossés, 77,9 % avaient de l'eau et 44,2 % avaient des larves (Figure 4, page 45). Il est possible que les résultats obtenus pour les puisards soient liés aux fortes précipitations tombées durant les 2 étés de l'étude. En effet, les mois de juin, juillet et août 2008 et juin et juillet 2009 ont eu des précipitations au-dessus des normales de saison (Environnement Canada 2008, Environnement Canada 2009).

Les densités relatives (Table 1, page 47) nous démontrent qu'un gîte reproducteur potentiel retrouvé en milieu rural a environ 5 fois plus de chance d'être colonisé qu'un gîte reproducteur potentiel retrouvé en milieu urbain (28,5 % des gîtes reproducteurs en milieu rural contre 6,0 % en milieu urbain). De plus, en zone urbaine, seulement 0,8 % des gîtes reproducteurs avaient de grandes densités de larves (4, 5 ou 6) (Table 1, page 47). En milieu rural, c'est 4,7 % des gîtes reproducteurs. Si les gîtes reproducteurs potentiels sont plus souvent colonisés et avec de plus fortes densités, nous pouvons supposer que plus de moustiques adultes vont émerger de ces gîtes. Ainsi, les risques de transmission du VNO seraient plus élevés en milieu rural si ces moustiques sont des espèces vectrices, ce qui est le cas dans cette étude.

Les espèces considérées comme les plus importants vecteurs du VNO sont les espèces du genre *Culex* (Turell, 2005). *Culex pipiens* et *Culex restuans* ont été les deux espèces les plus retrouvées dans cette étude, à la fois en milieu urbain et rural. Une différence entre les deux milieux a été observée en ce qui a trait aux espèces considérées comme non vectrices. On retrouve plus fréquemment des espèces non vectrices en milieu urbain (9,2 %) qu'en milieu rural (3,3 %). Ce résultat vient appuyer l'affirmation que les gens résidant en milieu rural sont plus à risque d'attraper le VNO que les gens résidant en milieu urbain.

1.7 Conclusion

À notre connaissance, une étude comparant certaines caractéristiques entomologiques (gîtes, espèces, densités larvaires) du VNO en milieu rural et en milieu urbain, est une première réalisée à ce jour au Canada.

Deux observations importantes pour la santé publique se dégagent de cette étude. Premièrement, les gîtes reproducteurs potentiels sont plus souvent colonisés en milieu rural qu'en milieu urbain. Deuxièmement, ces gîtes sont colonisés avec de plus fortes densités en milieu rural qu'en milieu urbain.

On retrouve sensiblement les mêmes espèces dans les deux milieux, mais une plus forte proportion d'espèces non vectrices se retrouve en milieu urbain. Suite à nos travaux, il est possible de conclure que les gens qui vivent en milieu rural sont plus à risque d'attraper le virus du Nil occidental que les gens qui vivent en milieu urbain.

Contrairement à ce qui a été fait dans les années où le VNO était actif au Canada, il serait important à l'avenir, de voir à ce que les activités de surveillance et de contrôle du VNO tiennent compte des milieux ruraux lors de risques d'épidémie. Il serait également intéressant de vérifier l'influence des animaux de ferme sur les moustiques, soit comme effet attractif ou comme cible préférentielle, diminuant ainsi la prédation sur l'homme. Puisque nous savons l'importance des populations d'oiseaux dans la

transmission du virus, il pourrait être intéressant de vérifier la différence entre les populations d'oiseaux des milieux ruraux et des milieux urbains. Finalement, une étude sur le comportement des moustiques pourrait aider à déterminer si la plupart des moustiques qui émergent sur les fermes des milieux ruraux vont rester à proximité de la ferme ou se disperser.

1.8 Références bibliographiques

- Anderson JF, Andreadis TG, Vossbrinck CR, Turell S, Wakem EM, French RA, Germendia AE and Van Kruiningen HJ. 1999. Isolation of West Nile virus from mosquitoes, crows, and a Cooper's hawk in Connecticut, *Science* 286 (5448): 2331-2333.
- Anderson JF and Main AJ. 2006. Importance of vertical and horizontal transmission of West Nile virus by *Culex pipiens* in the northeastern United States. *J. Infect. Dis.* 194: 1577-1579.
- Anderson JF, Andreadis TG, Main AJ, Ferrandino FJ and Vossbrinck CR. 2006. West Nile virus from female and male mosquitoes (*Diptera: Culicidae*) in subterranean, ground and canopy habitats in Connecticut. *J. Med. Entomol.* 43: 1010-1019.
- Anderson JF, Main AJ, Delroux K and Fikrig E. 2008. Extrinsic incubation periods for horizontal and vertical transmission of West Nile virus by *Culex pipiens pipiens* (*Diptera: Culicidae*). *J. Med Entomol.* 45(3): 445-451.
- Brault AC, Langevin SA, Bowen R, Panella NA, B. J. Biggerstaff BJ and Miller BR. 2004. Differential virulence of West Nile strains for American crows. *Emerg. Infect. Dis.* 10: 2161-2168.
- Burke SA, Wen L and King NJ. 2004. Routes of inoculation and the immune response to a resolving genital flavivirus infection in a novel murine model. *Immunology and Cell Biology* 82: 174-183.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 1999. Outbreak of West Nile- like viral encephalitis – New York, 1999. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 48(38): 845-849.

- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2002a. Possible West Nile virus transmission to an infant through breast-feeding – Michigan 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51: 877-878.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2002b. Investigation of West Nile virus infections in recipients of blood transfusions. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 51: 973-974.
- Darsie RF and Ward RA. 2005. Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, North Mexico. University Press of Florida, Gainesville, FL.
- Environnement Canada. 2008. National climate data and information archive. Daily Data Report for June, July, August and September 2008 [Internet]. Ottawa, ON: Environment Canada. [Accessed June 10, 2010].
<http://www.climat.meteo.gc.ca/climatedata>
- Environnement Canada. 2009. National climate data and information archive. Daily Data Report for June, July, August and September 2009 [Internet]. Ottawa, ON: Environment Canada. [Accessed June 10, 2010].
<http://www.climat.meteo.gc.ca/climatedata>
- Geery PR and Holub RE. 1989. Seasonal abundance and control of *Culex* spp. in catch basins in Illinois. *J Am Mosq Control Assoc* 5(4): 537-540.
- Hayes CG. 2001. West Nile virus : Uganda, 1937, to New York City, 1999. *Annals of the New York Academy of Sciences* 951: 25-37.
- Hayes EB, Komar N, Nasci RS, Montgomery SP, O’Leary DR and Campbell GL. 2005. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis* 11: 1167-1173.
- Hayes EB and Gubler D. 2006. West Nile virus: Epidemiology and clinical features of an emerging epidemic in the United States. *Annu Rev Med* 57: 181-194.
- Hubàlek Z, and Halouzka J. 1999. West Nile Fever - a Reemerging Mosquito-Borne Viral Disease in Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 5(5): 643-650.
- Kaufman PE, Harrington LC, Waldron JK and Rutz DA. 2005. The Importance of Agricultural Tire Habitats for Mosquitoes of Public Health Importance in New York State. *J Am Mosq Control Assoc* 21(2): 171-176.

- Komar N. 2000. West Nile viral encephalitis. *Rev. Sci. Tech.* 19 (1): 166-176.
- Komar N, Langevin S, Hinten S, Nemeth N, Edwards E, Hettler D, Davis B, Bowen R and Bunning M. 2003. Experimental infection of North American birds with the New York 1999 strain of West Nile virus. *Emerg. Infect. Dis.* 9: 311-322.
- Kramer LD, Styer LM and Ebel GD. 2008. A Global Perspective on the Epidemiology of West Nile Virus. *Ann. Rev. Ent.* 53: 61-81.
- Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J and Parker M. 1999. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 286: 2333-2337.
- Miller BR, Nasci RS, Godsey MS, Savage HM, Lutwama JJ, Lanciotti RS and Peters CJ. 2000. First field evidence for natural vertical transmission of West Nile virus in *Culex univittatus* complex mosquitoes from Rift Valley Province, Kenya. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 62: 240-246.
- Nasci RS, Savage HM, White DJ, Miller RJ, Cropp BC, Godsey MS, Kerst AJ, Bennett P, Gottfried K and Lanciotti RS. 2001. West Nile virus in overwintering *Culex* mosquitoes, New York City, 2000. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 742-744.
- Rappole JH, Derrickson SD, and Hubàlek Z. 2000. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. *Emerg. Infect. Dis.* 6: 319-328.
- Rappole JH, and Hubàlek Z. 2003. Migratory birds and West Nile virus. *J. App. Microbiol.* 94: 47S-58S.
- Reisen WK, Fang Y, Lothrop HD, Martinez VM, Wilson J, O'Connor P, Carney R, Cahoon-Young B, Shafii M and Brault AC. 2006. Overwintering of West Nile virus in Southern California. *J. Med. Entomol.* 43: 344-355.
- Ruiz MO, Tedesco C, McTighe TJ, Austin C and Kitron U. 2004. Environmental and social determinants of human risk during a West Nile virus outbreak in the greater Chicago area, 2002. *Int J Health Geogr* 3(8).
- Schellenberg TL, Anderson MF, Drebot MA, Vooght MTR, Findlater AR, Curry PS, Campbell CA, and Osei WD. 2006. Seroprevalence of West Nile Virus in Saskatchewan's Five Hills Health Region, 2003. *Canadian Journal of Public Health* 97(5): 369-373.

- Société de protection des forêts contre les insectes et maladies (SOPFIM). 2005. Relevé des gîtes à *Culex* en milieu urbain. pp. 95.
- Su T, Webb JP, Meyer RP and Mulla MS. 2003. Spatial and temporal distribution of mosquitoes in underground storm drain systems in Orange Country, California. *J Vector Ecol* 28(1): 79-89.
- Turell MJ, Dohm DJ, Sardelis MR, O'Guinn ML, Andreadis TG and Blow JA. 2005. An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J Med Entomol* 42(1): 57-62.
- Yee DA. 2008. Tires as habitats for mosquitoes : a review of studies within the eastern United States. *J Med Entomol* 45(4): 581-593.

CHAPITRE 2

ARTICLE SCIENTIFIQUE

Manuscrit soumis électroniquement au “Journal of the American Mosquito Control Association” (JAMCA).

The importance of rural areas in the breeding of West Nile virus vectors

Stéphanie Moreau^{1, 2}, Jacques Boisvert^{1, 3}, Mathieu Langevin¹

¹ Département de chimie-biologie, Université du Québec à Trois-Rivières,
Trois-Rivières, Quebec, Canada

² As part of M. Sc. Requirements

³ Corresponding author : Département de chimie-biologie, Université du Québec à
Trois-Rivières, 3351 boul. des Forges, C.P. 500, Trois-Rivières (Qc), G9A 5H7

Tel 819-376-5011 poste 372

Email: jacques.boisvert@uqtr.ca

Running title: West Nile virus in rural areas.

RÉSUMÉ

La présente étude tente de déterminer l'importance que peuvent avoir les milieux ruraux sur la transmission du virus West Nile. Les larves de moustiques ont été recueillies à Louiseville (Québec, Canada) en zones urbaine et rurale, pour déterminer les espèces présentes, la quantité et le type de gîte reproducteur utilisé. Durant la saison estivale, nous avons échantillonné les cours arrière des résidences privées et les puisards (égouts pluviaux) en région urbaine. Nous avons visité 481 cours arrière en 2008-2009. En région rurale, nous avons échantillonné 15 fermes une fois par mois en 2008 et aux deux semaines en 2009. Nous avons découvert que 28,5 % des gîtes potentiels de reproduction en région rurale contenaient des moustiques, contre seulement 6,0 % en milieu urbain. Le gîte reproducteur le plus important dans les deux régions était les pneus usagés. Les puisards, type de gîte reproducteur considéré comme dominant dans plusieurs études, se sont révélés peu importants, avec seulement 3,0 % des puisards échantillonnés contenant des larves de moustique. Ceci peut être dû en partie à des saisons particulièrement pluvieuses à Louiseville, et au Québec en général, durant les étés 2008 et 2009. Les espèces les plus importantes en milieu rural sont *Culex restuans* ainsi que *Culex pipiens*. En région urbaine, il s'agit également de *Cx. restuans* et en plus faible quantité *Cx. pipiens*. *Ochlerotatus japonicus* a été découverte dans les deux milieux. Par conséquent, les milieux ruraux, malgré la faible densité de population qui s'y retrouve, représentent un risque élevé pour la reproduction de vecteur d'arbovirus et devraient être pris en compte lors de contrôle des vecteurs et les programmes de surveillance.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the importance of rural areas in West Nile virus transmission. Mosquito larvae were collected in Louiseville, (Quebec, Canada) from two areas, urban and rural, to determine which species were present, the density, the percentage of larvae and the kind of breeding site used. During the summer, in urban area, we sampled the backyards of residences and the storm catch basins. We visited 481 backyards and made 132 visited in farms in 2008-2009. In rural area, we sampled 15 farms once a month in 2008 and once every two weeks in 2009. We found that 28,5% of the potential breeding sites in the rural area had mosquito larvae against only 6,0% in the urban area. The breeding site that was the most important in both areas was used tires. The storm catch basins, a breeding site considered as particularly important in past studies, appeared to be of less importance in this study, with only 3,0% of the sampled basins containing larvae. This can be explain by the rainy seasons in Louiseville (and in Quebec generally), in 2008 and 2009 summers. The most encounter species in rural area were *Culex restuans* and *Culex pipiens*. In urban area, it was also *Cx. restuans* with a low percentage of *Cx. pipiens*, *Ochlerotatus japonicus* and *Ochlerotatus triseriaus*. *Ochlerotatus japonicus* was found in both areas. Rural areas, in spite of their low population density, are at risk of developing West Nile vectors. Consequently, theses areas should be considered in vector control and survey programs.

Keywords: West Nile virus, *Culex*, urban, rural, *Ochlerotatus japonicus*

INTRODUCTION

West Nile virus (WNV) has first been reported in North America in 1999, in New York City (Lanciotti *et al.*, 1999). Since then, it had spread throughout Americas. In nature, WNV maintained itself in a bird-ornithophilic mosquito cycle (Hayes *et al.*, 2005). Mosquito of the genus *Culex* and particularly *Cx pipiens* are considered the most important vectors (Turell *et al.*, 2000; Hayes *et al.*, 2005). Occasionally, an infected mosquito will change its feeding habits and bite a human, thus transmitting the virus. Most of the persons infected are asymptomatic. In 20 to 40% of people, there might be flu-like symptoms (fever, headache, malaise, myalgia, fatigue, skin rash, vomiting, diarrhoea). Less than 1% of infected human will develop a severe neuroinvasive disease such as meningitis, encephalitis or acute flaccid paralysis (Hayes and Gubler, 2006).

Culex pipiens is considered as an urban mosquito species (Turell *et al.*, 2005). Since it is one of the most important vectors of WNV, studies have mainly been conducted in high density areas as Chicago or New York (Turell *et al.*, 2000; Theophilides *et al.*, 2003; Ruiz *et al.*, 2004). However, high incidence zones (more than 100 cases per million) are found in typically rural region, such as Nebraska or South Dakota (USA). From 2002 to 2006, the states with the highest incidence rates were in the Northern Great Plains of North America (Lindsey *et al.*, 2008). For example, Saskatchewan (Canada), in 2003, had the highest number of case in Canada, with a seroprevalence of 9.98% in Five Hill region, the highest rate ever encounter (Schellenberg *et al.*, 2006). Ruiz *et al.* (2004) showed that a region is more susceptible to include one case of WNV if the density of population is smaller. Kaufman *et al.*

(2005) showed the importance of used tires on dairy farms in New York region as breeding sites for species considered as good vectors for WNV as *Culex spp.* and *Ochlerotatus japonicus*. However, many of these studies use Land/Use Cover data (DeGroote *et al.*, 2008; Lindsey *et al.*, 2008; Rochlin *et al.*, 2008), to determine rural areas. This way, they missed information that we can see only on a smaller scale, such as the surroundings of a farm.

The objective of this study was to determine the relative importance of the mosquito populations implicated in the transmission of encephalitis-type diseases such as WNV, during the critical period from July to September and this, both in urban and rural areas. The mosquito populations are compared as species, larval density and breeding sites to evaluate if rural areas are more at risk than urban areas to spread WNV.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted in Louiseville, Quebec, Canada (46°15'21'', 72°56'28''). This city has a population of 10,000 inhabitants and an urban area with a density of population around 400 inhabitants / km² and a large agricultural zone (Fig. 1). This region of the province of Quebec bordering the St Lawrence River is characterised by a rich soil and temperate climate, with a lot of agricultural production, principally corn. Dairy farms are the most important animal production but there is also porcine, bovine and avian production (MAPAQ, 2007). The study was divided in two sections, data collection were performed in urban and rural areas.

Mosquitoes were collected as larvae. Potential breeding sites (whether natural or artificial) were checked systematically for larvae and noted (Fig. 2). When larvae were present, a density was estimated, on a scale from 1 to 6 (1 = 1 to 5 larvae and 6 = 500 larvae and more) adapted from Carron *et al.* (2003). If there were no larvae, the density was noted as 0. To collect larvae, a fish net of 6 cm x 7 cm x 9 cm, with meshes fine enough to capture first instar larvae, was used. The larvae were taken back to the laboratory and when needed were reared to fourth instar to allow their identification to the species. Powdered dried liver and demineralised water were used to let the larvae grow. Larvae were killed and stored in 95% ethanol. We used the identification key of Darsie and Ward (2005), *Identification and Geographical Distribution of the Mosquitoes of North America, North of Mexico*.

In urban area, the city was divided in 4 zones. Randomly selected houses were visited every day in each zone. The backyards of residences were sampled, looking for any recipient or ground depression that could contain water. Only single-family dwellings were selected since it was easier to obtain authorization to inspect the premises. Breeding sites with or without water were grouped as “Potential breeding sites”. The category “Breeding site with water” had to contain enough water to allow larval development. Finally, there was the category “Breeding site with larvae” when at least one larvae was found. All potential breeding sites found were regrouped into categories or types. Breeding sites encounter once or rarely were regrouped in the “Others” category. The storm catch basins were also sampled in each street visited. In 2008-2009, a total of 481 backyards were visited and 535 catch basins were sampled.

In the rural area, 15 farms were grouped at 5 locations and were sampled for larvae (Fig. 1). These farms located in the rural zone around Louiseville (Fig. 1), were selected according to the dimension of the farm, its location and the type of production. All the farms had between 20 and 200 heads of livestock although most of the farms had 60-80 heads. They were far enough of the city to avoid confusion between the zones. Avian farms were rejected since all the production is made inside buildings because of the control measures for avian flu still in effects during the 2008-2009 seasons. For this reason, most of the farms visited were essentially dairy farms. The grounds around the buildings (house, barns, shelters) were searched for potential breeding sites whether artificial or natural. The selected farms were visited once a month in 2008 and once every two weeks in 2009. In two years 132 visits were made on the selected farms.

RESULTS

To determine the level of risks for people living in rural areas, mosquito larvae were monitored in both rural and urban areas. The types of breeding site found, the larval relative density were noted and the species were later identified. Figure 2 shows some examples of breeding sites encountered in our study.

In urban area, the potential breeding site most often found with larvae was discarded tires (Fig. 3). These breeding sites contained water in 75,0% of the cases and had larvae in 28,9% of the cases. Roughly, in the city of Louiseville, one discarded tire in five contained larvae when inspected. Other breeding sites colonized frequently were 5-20L containers (10,7%) and 20L (or more) containers (19,7%). Bird baths (1,2%), 5L (or less) containers (1,9%), plastic bags, tarpaulins (5,9%) were not often colonized by mosquito larvae even if there were often found with enough water for larval breeding. In the urban area of the project, more than 500 catch basins were sampled and even if 80,4% of them had water, only 3,0% contained mosquito larvae.

In rural area, the potential breeding sites found were quite different (Fig. 4) than the ones found in urban area. However, the potential breeding sites found in rural area were sites present on practically all the farms visited. Again, the most colonized site was discarded tires. Interestingly in the rural area, there was as much car tires as heavy machinery tires. If 90,3% of the tires were found with water, 50,0% had mosquito larvae. Others sites found frequently with mosquito larvae were water ditches (44,2%), 5-20L containers (27,5%) and 20L (or more) containers (34,4%). Like the urban area,

the breeding types containing few larvae were 5L (or less) containers (4,0%) and plastic bags, tarpaulins (12,5%).

Potential breeding sites were more often colonized in rural area than in urban area (Table 1). Overall, 71,5% of potential breeding sites had no larvae during all the period 2008-2009, thus leaving 28,5% of breeding sites with mosquito larvae in rural area, compare to only 6,0% in urban area. In both areas, it was more often seen that the breeding sites contained lower relative densities (1, 2 or 3) than higher relative densities (4, 5 or 6). Furthermore, a relative density of 500 larvae or more has never been seen in urban area, but has been observed 11 times in the rural sites.

In both rural and urban areas, the species most often found was *Cx restuans* (Fig. 5). Of all species identified, it was *Cx restuans* at 45,9% and 44,8% of the time. In rural area, *Cx pipiens* was found 28,2% of the time. In the same percentage, we found *Oc japonicus* and *Anopheles punctipennis* (8,0%). *Oc stimulans* was found only in rural area and in a small percentage (0,2%).

In urban area, *Cx pipiens* was found 14,3% of the time (Fig. 5). Some species were in almost the same proportions, as *Cx pipiens*, *Oc japonicus* (11,2%), *Oc triseriatus* (12,2%) and Others species (9,2%).

DISCUSSION

Louisville is a small city surrounded by a large agricultural area (Fig. 1). In the urban area of the city, during 2008 and 2009, there was at least one breeding site with larvae in 36,6% of the houses backyards visited, but in rural area, during the same period, 68,2% of the farms visited had at least one breeding site with larvae (result not shown). One of the major finding in this work was that in urban area, only 3,1% of the backyards visited had more than 2 breeding sites with larvae, comparatively to 49,2% in farms. Up to 11 breeding sites with larvae could be found in one farm, comparatively to maximum 4 in the backyards visited. In urban area, there was between 2008 and 2009, 2,9 breeding sites with larvae per house, while in rural area, there was a 7,9 breeding sites with larvae per farm. The difficulty to completely eliminate or reduce the large number of breeding sites in rural area can be explained by the fact that these sites are often parts of the material used for the farm. For example, a lot of potential breeding sites were heavy machinery stored outside as tractor tires or buckets (Fig. 2); drinking and feeding troughs just can't be removed. On the contrary, people living in urban area usually dispose of the objects that could be potential breeding sites or empty breeding sites with water, e.g. toys. Since we visited backyards (in urban area) only once and did not inform the owner in advance, the objects founded were often used the same day or the day before and then stored. That is also why a lot of potential breeding sites were classified as "Others" (Fig. 3).

The most abundant breeding site with larvae was discarded tires (Fig. 3 and 4). In both rural and urban area, almost one tire out of two had mosquito larvae in this study.

This is a habitat use commonly by 18% of the species of mosquitoes founded in North America (Yee, 2008). Because of their size and their weight, it is much more difficult to get rid of a tractor tire than a car tire. Tractor tire being larger than car tire, it can hold higher densities of mosquitoes. Moreover, some farms have many uses for discarded tires; for example, as weights on a tarpaulin covering feed lots (Fig. 2). When the tires aren't used, they are piled up on the ground and become excellent breeding sites before they are discarded in a proper site. Kaufman *et al.* (2005) studied the importance of discarded tires piled on dairy farms in New York area and came to the conclusion that they are important breeding sites for many species vectors of WNV.

Another difference between urban and rural area is the way rain water is drained off. In urban area, you can find catch basins in the streets but in rural area, there are water ditches along the fields and the streets. In rural area, 86.7% of visited farms had a water ditch near the buildings while in the urban area there was an average of 8 catch basin per visited street. According to city data, the 4 zones we investigated had an average of 22 houses per street, thus 0.36 catch basin for one house. Unlike what has been found in other publications (Geery and Holub, 1989; Su *et al.*, 2003; Anderson *et al.*, 2006), few catch basins contained larvae. Even if 80.4% of the catch basins contained enough water to be a potential breeding site, only 3.0% contained larvae (Fig. 3). For drainage ditches, 77.9% had water and 44.2% had larvae (Fig. 4). It appears that in rural areas drainage ditches are an important source of mosquito vectors of WNV, compared to catch basins in urban areas. It is possible that the results obtained in catch basins are related to the high precipitations seen during the two years of the study. Indeed, June, July and August 2008 and June and July 2009 showed precipitations much

above the normal of season (Environnement Canada, 2008; Environnement Canada, 2009). Since it needs few precipitations for a catch basin to evacuate his water, it is possible that the larvae were flushed away during a heavy rain. For example, in Louiseville, if 1 mm of rain falls, there is 324L of water passing through each catch basin, about 3,5 times the dead volume of a catch basin. However, as shown in this study, drainage ditch are a very important source of mosquitoes and should be considered on the same level as the catch basins in survey programs.

Few breeding sites frequently found with water, contained larvae. This is the case for containers of less than 5L, toys, flowerpots, vases, bird baths and plastic bags, tarpaulins in urban area (Fig. 3). These breeding sites contained larvae in less than 10% of the time. These are potential breeding sites very often found in urban area and it is relevant to wonder at the necessity to consider these potential breeding sites in survey programs.

Looking at the relative larval densities (Table 1) it indicates that a potential breeding site found in rural area has 5 times more chances to be colonised with larvae than one found in urban area (28,5% of breeding sites with larvae in rural area against 6,0% in urban area (Table 1). Breeding sites were more often found with smaller densities (1, 2 or 3) than with greater densities (4, 5 or 6) (Table 1). In urban area, 5,2% of the breeding sites with larvae had small densities and only 0,8% had great densities. In rural area, 23,8% of the breeding sites with larvae had small densities against 4,7% with great densities. These results could be explained by the tendency of rural breeding sites to be larger than urban ones (Fig. 3 and 4). If potential breeding sites are more often

colonised, and with higher densities (Table 1), as we can see in rural area, we can infer that more adult mosquitoes will emerge from these sites. Thus the risk of West Nile virus transmission could be greater in rural areas if the mosquitoes found are vectors species. This is the case in this study.

Species considered as the most important vectors of WNV are of the genus *Culex* (Turell, 2005). *Culex pipiens* and *Cx retuans* were the two species most often encountered in this study, in both urban and rural areas. These two species can be found in artificial breeding sites (Yee, 2008). However, there is a difference between urban and rural areas for *Cx pipiens*. If 28,2% of the species found in rural area were *Cx pipiens*, this percent was share in urban area between *Cx pipiens*, *Oc triseriatus* and *Oc japonicus* (Fig. 5). The latter one is an important vector of WNV (Sardelis and Turell 2001) that appeared in Canada in 2001 (Thielman and Hunter 2006). Since then, it seems that it is well establish in Southern Quebec, particularly in Louiseville in 2008-2009 considering that 11,2% of the species found in urban area were *Oc japonicus* and 8,0% in rural area (Fig. 5). This species bites preferentially mammals (Apperson *et al.*, 2004; Molaei *et al.*, 2008) so it is a potential threat to humans in both urban and rural environments although it is not as common as *Culex* species.

Ochlerotatus triseriatus is described as a species found particularly in tree holes. In our study, *Oc triseriatus* larvae was found in discarded tires. This agrees with other publications (DeFoliart and Lisitza, 1980; Joy and Clay, 2002; Yee, 2008) that observed that *Oc triseriatus* can be found in discarded tires. However, 72,1% of discarded tires were found in rural area. Such results should have ensured a greater presence of

Oc triseriatus in this area. On the contrary, it was found mainly in urban area (12,2% against 0,9% in rural area (Fig. 5). Previous publications shows the contrary, as DeFoliart and Lisitza (1980) who found that farms are a transition between woods and urban areas, thanks to discarded tires. Another interesting research would be to verify the interspecific competition in rural area, to see if it is not too strong for *Oc triseriatus* (Yee *et al.*, 2004). The other species found in the same period in discarded tires was *Cx restuans*.

Ochlerotatus stimulans is described as a species that can be found in woodlands (Andreadis, 1999), and has been found in rural area in containers of 20L or more. It is possible that the absence of natural breeding site bring this species to find something similar. Again, the absence of wood in proximity goes against anterior publications, which suggest that mosquito species seem to be really opportunistic in the selection of breeding sites. Knowing that, it becomes very important to limit as much as possible the number of potential breeding sites in our environment.

There was a difference between urban and rural area for *Ae vexans*, since it was found more frequently in rural area (rural area 6,6%, urban area 2,0%). Other publication showed that *Ae vexans* is a suburban species that like flooded meadows (Horsfall *et al.*, 1973), a natural breeding site. *Aedes vexans* doesn't have a good vector competence but is considered as a good WNV vector because of its great abundance in Quebec (Kilpatrick *et al.*, 2005). This great abundance could be a problem in rural area if WNV was detected among the population.

The “Others” category regroups species that are not considered as important WNV vectors. Here again, a difference was noted between rural and urban areas. There was more frequently non vectors species in urban area (9,2%) than in rural area (3,3%). These results suggest again that once bitten by a mosquito, people living in rural area are more at risk of WNV than people living in urban area.

Considering the high number of potential breeding sites in rural area and considering that these potential breeding sites are more often colonised by mosquitoes, with higher densities and important vector species, it is relevant that people living in rural area more at risk of WNV infection than people living in urban area. Rural areas should thus be considered in any control and survey activities dealing with West Nile virus.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, Université du Québec à Trois-Rivières and GDG Environnement for their financial support. We also thank the city and people of Louiseville for their participation in this study. Finally, we thank Dr. Jean-Pierre Bourassa for his precious help in mosquito identification.

REFERENCES

- Anderson JF, Andreadis TG, Main AJ, Ferrandino FJ, Vossbrinck CR. 2006. West Nile virus from female and male mosquitoes (Diptera: Culicidae) in subterranean, ground and canopy habitats in Connecticut. *J Med Entomol* 43(5): 1010-1019.
- Andreadis TG. 1999. Epizootiology of *Amblyospora stimuli* (Microsporidiida : Amblyosporidae) infections in field populations of a univoltine mosquito, *Aedes stimulans* (Diptera: Culicidae), inhabiting a temporary vernal pool. *J Invertebr Pathol* 74:198-205.
- Apperson CS, Hassan HK, Harrison BA, Savage HM, Aspen SE, Farajollahi A, Crans W, Daniels TJ, Falco RC, Benedict M, Anderson M, McMillen L, Unnasch TR. 2004. Host-feeding patterns of established and potential mosquito vectors of West Nile virus in the eastern United States. *Vector Borne Zoonotic Dis* 4:71-82.
- Carron A, Duchet C, Gaven B, Lagneau C. 2003. An easy field method for estimating the abundance of culicid larval instars. *J Am Mosq Control Assoc* 19(4): 353-360.
- Darsie RF, Ward RA. 2005. Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, North Mexico. University Press of Florida, Gainesville, FL.
- DeFoliart GR, Lisitza MA. 1980. Activity by *Aedes triseriatus* in open terrain. *Mosquito News* 40(4): 650-652.
- DeGroote JP, Sugumaran R, Brend SM, Tucker BJ, Bartholomay LC. 2008. Landscape, demographic, entomological, and climatic associations with human disease incidence of West Nile virus in the state of Iowa, USA. *Int J Health Geogr* 7: 19-35.

Environnement Canada. 2008. National climate data and information archive. Daily Data Report for June, July, August and September 2008 [Internet]. Ottawa, ON: Environment Canada. [Accessed June 10, 2010].

<http://www.climat.meteo.qc.ca/climatedata>

Environnement Canada. 2009. National climate data and information archive. Daily Data Report for June, July, August and September 2009 [Internet]. Ottawa, ON: Environment Canada. [Accessed June 10, 2010].

<http://www.climat.meteo.qc.ca/climatedata>

Geery PR, Holub RE. 1989. Seasonal abundance and control of *Culex* spp. in catch basins in Illinois. *J Am Mosq Control Assoc* 5(4): 537-540.

Hayes EB, Komar N, Nasci RS, Montgomery SP, O'Leary DR, Campbell GL. 2005. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg Infect Dis* 11: 1167-1173.

Hayes EB, Gubler D. 2006. West Nile virus : Epidemiology and clinical features of an emerging epidemic in the United States. *Annu Rev Med* 57: 181-194.

Horsfall WR, Fowler Jr. HW, Moretti LJ, Larsen JR. 1973. Bionomics and embryology of the inland floodwater mosquito *Aedes vexans*. University of Illinois Press, Chicago, IL.

Joy JE, Clay JT. 2002. Habitat use by larval mosquitoes in West Virginia. *Am Middle Nat* 148: 363-375.

Kaufman PE, Harrington LC, Waldron JK, Rutz DA. 2005. The Importance of Agricultural Tire Habitats for Mosquitoes of Public Health Importance in New York State. *J Am Mosq Control Assoc* 21(2): 171-176.

- Kilpatrick AM, Kramer LD, Campbell SR, Alleyne EO, Dobson AP, Daszak P. 2005. West Nile Virus Risk Assessment and the Bridge Vector Paradigm. *Emerg Infect Dis* 11(3):425-429.
- Lanciotti RS, Roehrig JT, Deubel V, Smith J, Parker M. 1999. Origin of the West Nile virus responsible for an outbreak of encephalitis in the northeastern United States. *Science* 286: 2333-2337.
- Lindsey NP, Kuhn S, Campbell GL, Hayes EB. 2008. West Nile virus neuroinvasive disease incidence in the United States, 2002-2006. *Vector Borne Zoonotic Dis* 8(1): 35-39.
- MAPAQ (Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec). 2007. L'industrie bioalimentaire de la Mauricie – Estimations pour 2007 [Internet]. Québec, QC : MAPAQ [Accessed June 18, 2010].
<http://www.mapaq.gouv.qc.ca/regions/mauricie/vraiprofil/>
- Molaei G, Andreadis TG, Armstrong PM, Diuk-Wasser M. 2008. Host-feeding patterns of potential mosquito vectors in Connecticut, USA: molecular analysis of bloodmeals from 23 species of *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquilletidia*, *Psorophora*, and *Uranotaenia*. *J Med Entomol* 45: 1143-1151.
- Rochlin I, Harding K, Ginsberg HS, Campbell SR. 2008. Comparative Analysis of Distribution and Abundance of West Nile Virus and Eastern Equine Encephalomyelitis Virus Vectors in Suffolk County, New York, Using Human Population Density and Land Use/Cover Data. *J Med Entomol* 45(3): 563-571.
- Ruiz MO, Tedesco C, McTighe TJ, Austin C, Kitron U. 2004. Environmental and social determinants of human risk during a West Nile virus outbreak in the greater Chicago area, 2002. *Int J Health Geogr* 3(8): pp. 12.

- Sardelis MR, Turell MJ. 2001. *Ochlerotatus j. japonicus* in Frederick County, Maryland: discovery, distribution, and vector competence for West Nile virus. *J Am Mosq Control Assoc* 17:137-141.
- Schellenberg TL, Anderson MF, Drebot MA, Vooght MTR, Findlater AR, Curry PS, Campbell CA, Osei WD. 2006. Seroprevalence of West Nile Virus in Saskatchewan's Five Hills Health Region, 2003. *Canadian Journal of Public Health* 97(5): 369-373.
- Su T, Webb JP, Meyer RP, Mulla MS. 2003. Spatial and temporal distribution of mosquitoes in underground storm drain systems in Orange Country, California. *J Vector Ecol* 28(1): 79-89.
- Theophilides CN, Ahearn SC, Grady S, Merlino M. 2003. Identifying West Nile Virus Risk Areas: The Dynamic Continuous-Area Space-Time System. *Am J Epidemiology* 157: 843-854.
- Thielman A, Hunter FF. 2006. Establishment of *Ochlerotatus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Ontario, Canada. *J Med Entomol* 43:138-142.
- Turell MJ, O'Guinn M, Oliver J. 2000. Potential for New York mosquitoes to transmit West Nile virus. *Am J Trop Med Hyg* 62: 413-414.
- Turell MJ, Dohm DJ, Sardelis MR, O'Guinn ML, Andreadis TG, Blow JA. 2005. An update on the potential of North American mosquitoes (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J Med Entomol* 42(1): 57-62.
- Yee DA, Kesavaraju B, Juliano SA. 2004. Larval feeding behaviour of three co-occurring species of container mosquitoes. *J Vector Ecol* 29(2): 315-322.

Yee DA. 2008. Tires as habitats for mosquitoes: a review of studies within the eastern United States. *J Med Entomol* 45(4): 581-593.

Figure 1 Aerial photography of Louiseville (Quebec) and its surroundings. The city is surrounded by a large agricultural zone and the St Lawrence River to the south.

Figure 2 Examples of potential breeding sites found in rural and urban areas of Louiseville (Quebec) in 2008-2009. A) A tractor bucket, B) discarded tires, C) a bird bath and D) a >20L container.

Figure 3 Number of potential breeding sites, breeding sites with water and breeding sites with larvae found in the backyards of residences in urban area in Louiseville (Quebec) in 2008-2009.

Figure 4 Number of potential breeding sites, breeding sites with water and breeding sites with larvae founded in rural area in Louiseville (Quebec) in 2008-2009.

Figure 5 Percentage of species founded in different breeding sites in urban and rural areas in Louiseville (Quebec) in 2008-2009.

Table 1 Relative densities of mosquito larvae found in urban and rural areas in Louiseville, Quebec in 2008-2009. Relative density was estimated when samples were taken.

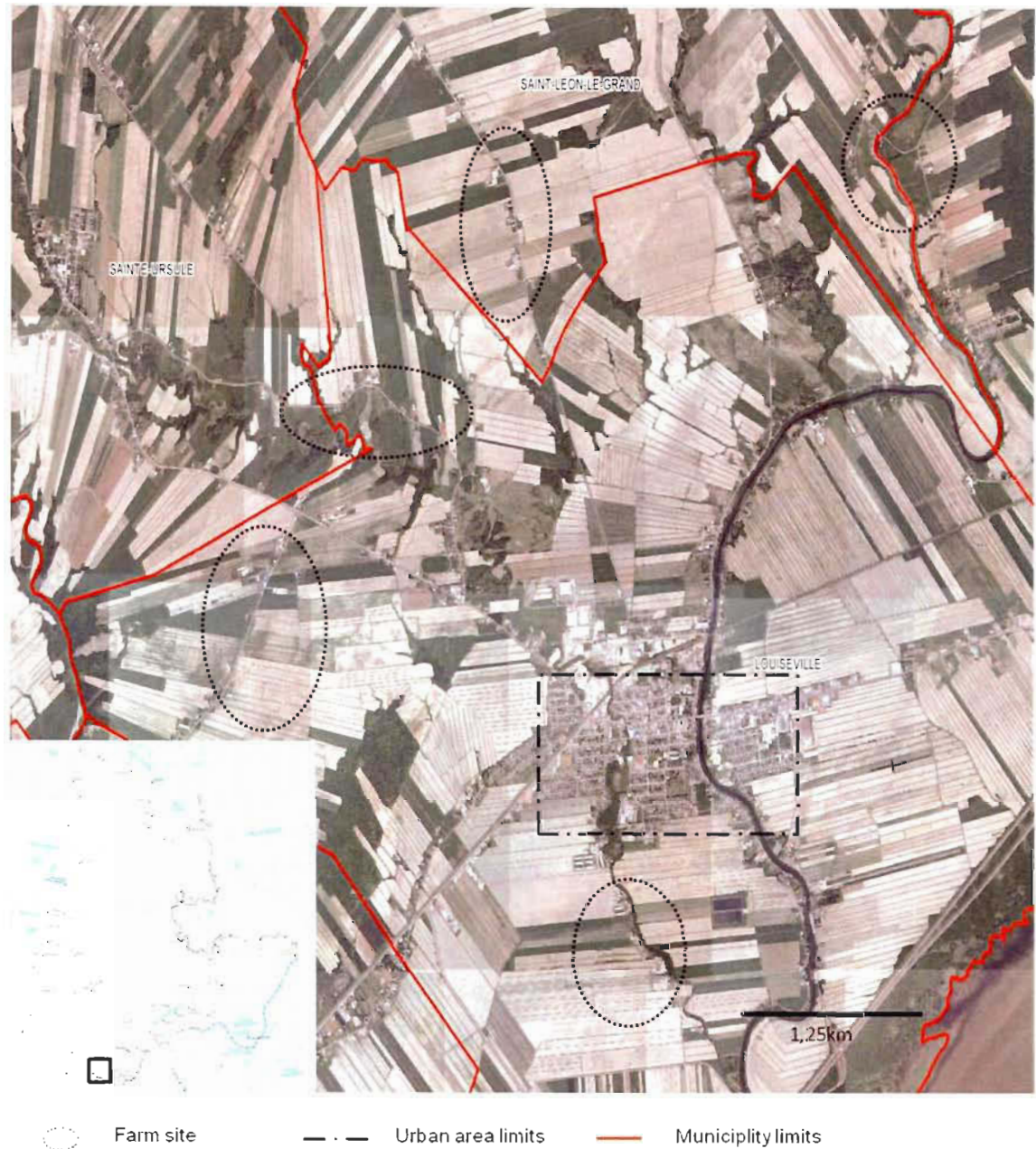


Figure 1



Figure 2

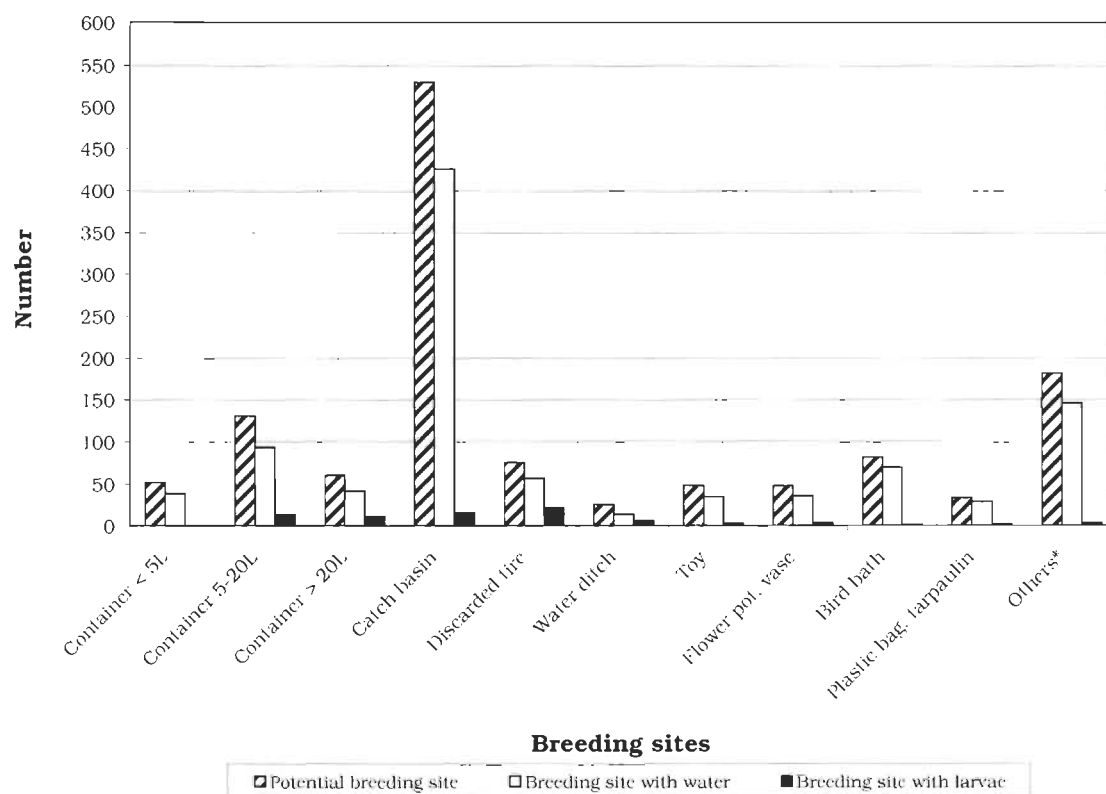


Figure 3

* This category regroups breeding sites not often encounter as can, fountain, rowboat, swimming pool, water bottle, watering can, etc.

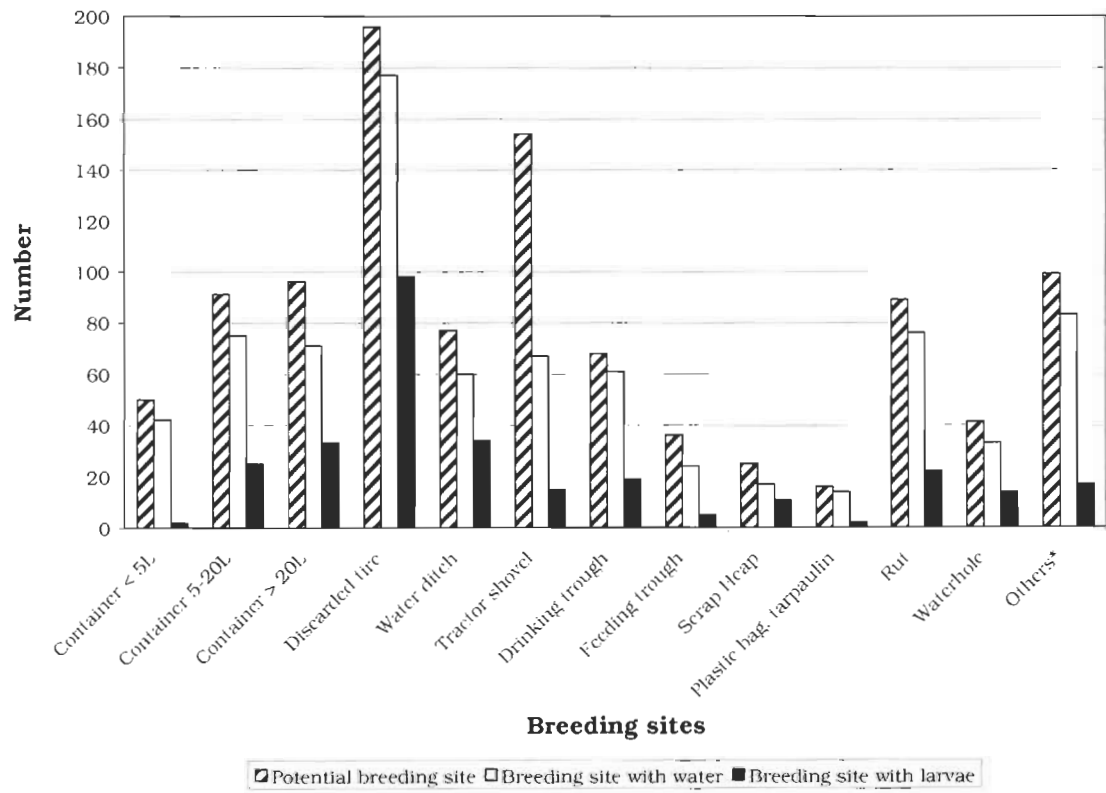


Figure 4

* This category regroups breeding sites not often encounter as bird bath, drum lid, flower pot, gutter, plastic basin, toy, wheelbarrow, etc.

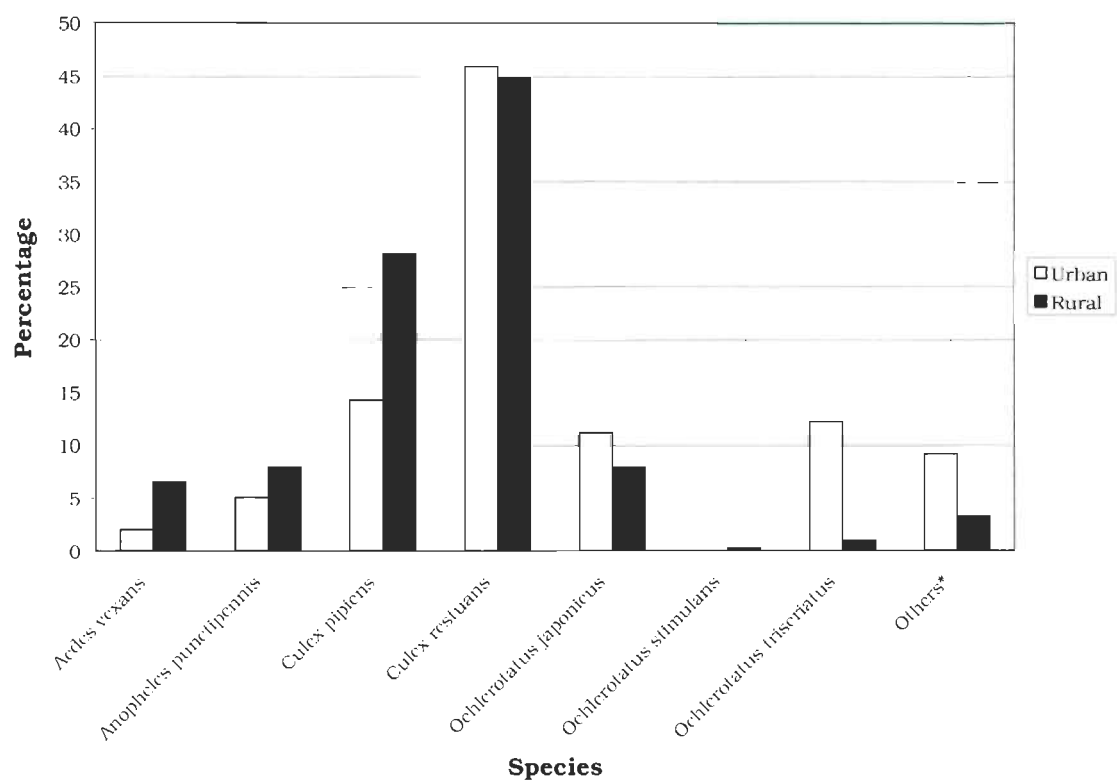


Figure 5

* This category regroups species that are not considered as important vectors for West Nile virus, adapt from Turell *et al.*, 2005.

Table 1

Relative density*	Rural		Urban	
	Total number of sites sampled	%	Total number of sites sampled	%
0	741	71,5	1282	94,0
1	79	7,6	22	1,6
2	106	10,2	27	2,0
3	62	6,0	22	1,6
4	28	2,7	8	0,6
5	9	0,9	3	0,2
6	11	1,1	0	0,0
Total	1036	100	1364	100

* 0 = 0 larvae 1 = 1 to 5 larvae 2 = 6 to 20 larvae 3 = 21 to 50 larvae 4 = 51 to 100 larvae
 5 = 101 to 500 larvae 6 = > 500 larvae

ANNEXE 1

Instructions aux auteurs

JOURNAL OF THE AMERICAN MOSQUITO CONTROL ASSOCIATION INFORMATION FOR CONTRIBUTORS

The Journal of the American Mosquito Control Association (JAMCA) encourages the submission of previously unpublished manuscripts contributing to the advancement of knowledge of mosquitoes and other arthropod vectors. The Journal encourages submission of a wide range of scientific studies that include all aspects of biology, ecology, systematics, and integrated pest management. Manuscripts exceeding normal length (e. g., monographs) may be accepted for publication as a supplement to the regular issue.

How to Submit

Manuscripts in Word or Rich Text format may be sent electronically to Dr. Lal S. Mian (edjamca@csusb.edu), Department of Health Science & Human Ecology, California State University. Electronic manuscripts may also be uploaded at <http://jamca.allentrack2.net>

If you have only a hard copy of the manuscript, it should be sent to Dr. Lal S. Mian, Department of Health Science & Human Ecology, California State University, 5500 University Parkway, San Bernardino, CA 92407-2393, USA. Hard copy manuscripts for review must be submitted in triplicate (original with 2 copies, including all figures and tables, typed or printed on 8 1/2 X 11-in. (21.6 x 28.0-cm) bond paper with 1-in. (2.5-cm.) margins. Double-space throughout, including references, and indent paragraphs. Dot-matrix printers should not be used.

Manuscripts are sent to 2 or 3 authorities for peer review. Their comments remain anonymous and are forwarded to the authors. Should a disagreement arise between the authors and the Editor, the Editorial Board of the Journal serves as an adjudication panel for resolving the issue.

Title page

Whether the manuscript is hard copy or electronic, the title page should include 1) the title of the manuscript; 2) a short running head of not more than 40 letters and spaces; 3) the first name, middle initial (optional), and last name of each author; 4) the name and address of each department and institution where the work was conducted; and 5) the name, address, telephone and fax numbers, and e-mail address of the author to whom correspondence and reprint requests should be addressed.

Abstract

Each regular article must be accompanied by an abstract not longer than 1 paragraph (~3% of the paper). The abstract should state the objectives, findings, and conclusions of the paper. List

5 keywords, to be used in the subject index, that best represent the contents of the article. The paper should be divided as follows: Abstract, Key Words, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, and References Cited. Footnotes should be kept to a minimum, be numbered continuously throughout the manuscript and be typed as endnotes on a separate page.

General Formatting

General text style includes the use of serial commas (apples, bananas, and oranges), except in the references when multiple authors are listed (Jones, Smith and Johnson). You may not begin sentences with abbreviations, including genus species abbreviations; spell out states mentioned without cities and spell out the names of months; use the 2-letter abbreviations for mosquito genera after the first mention in abstract, text, or table; always use numerals, except to begin a sentence. An acronym or abbreviation may be used only after the full name has been spelled out on the first use in the abstract, text, tables, and figure captions, e.g., World Health Organization (WHO). Cite unpublished data and personal communications parenthetically in text, e.g., (Strickman and Kittayapong, unpublished data); and cite references in text using parenthetical entries in chronological, then alphabetical order, e.g., (Harrison 1990, Baimai 1992) or (Gabaldon 1990a, 1990b; Mekuria *et al.*, 1991). Please note that a comma is used between names if 1 publication year is referenced per author. A semicolon is used between names if multiple years are listed per author.

References Cited

The References Cited list should only include papers cited. Citation should conform to the style presented in these instructions. For extended guidance, authors may consult *Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers* (7th ed.), Council of Science Editors, Inc. (the CSE Manual). References are alphabetized according to author name. To alphabetize author names, include all letters of the author surnames and initials or of the organization name or its abbreviation. When the author name of 2 or more references is identical, use the publication dates to order those references chronologically. Do not use *et al.*, but list all authors. Abbreviations for journals are in accordance with the latest edition of BIOSIS Serial Sources. Spell out names of cities, use postal abbreviations for states (CA, MO, MI), and spell out names of countries outside the United States. The state is not required unless the city is not well known (e.g., Philadelphia and New York, but Emmaus, PA). Please note that publication titles (not article titles) are in italic type.

References Examples

Book: Author AB, Author C Jr, Author DE. Publication year. Title. Place of publication: Publisher name.

Ciampi A, Chang C-H, Hogg S, McKinney S. 1987. Recursive partitioning: a versatile method for exploratory data analysis in biostatistics. New York: D. Reidel Publishing.

WHO [Word Health Organization]. 1975. Manual on practical entomology, parts I and II. Geneva, Switzerland: World Health Organization.

Article in a Book: Author AB, Author CD. Publication year. Title of article. In: Editor F, Editor G, eds. Title of Book. Place of publication: Publisher. P0000-0000.

Hodgson E. 1985. Microsomal mono-oxygenases. In: Kerkut GA, Gilbert I, eds. Comprehensive insect physiology, biochemistry, and pharmacology. Volume 2. Oxford, United Kingdom: Pergamon Press. P 225-321.

Article in a Journal: Author AB, Author CD, Author EF. Publication year. Article Title
Journal Title (Using Biosis abbreviation) 00:0000-0000.

Darsie RF, Ward RA. 1981. Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, north of Mexico. Mosq Syst 1 (Supp):1-313.

Defoliart RM, Grimstad PR, Watts, DM. 1987. Advances in mosquito-borne arbovirus/vector research. Annu Rev Entomol 32:479-505.

Conference Proceedings: Author AB. Publication year. Title of Paper. In: Editor WX, Editor YZ, eds. Title of Publication or conference. Name of conference (if different from title); Year Month date-date of conference; place of conference. Place of publisher: Publisher. 0000-0000.

Blance T. 1988. Effectiveness of Neem products. In: Stomps PJ, Kramer J, eds. Assessments of vector control technologies in Latin America. Proceedings of the symposium at the 2nd meeting of the Latin American Society for Public Health. 1987 November 10-15; Puebla, Mexico. Washington, DC: American Association for the Study of Malaria. P 105-108.

Abstract: Author AB, Author CD. Publication year. Title of Abstract [abstract]. In: Editor AB, ed. Title of publication or conference. Year Month date-date of conference; Place of conference. Place of publication: publisher. P 00. Abstract number.

Smith RE, Campos RA. 1981. Identification of mosquitoes in North America [abstract]. In: Kellerman J., ed. 14th National Congress on Entomology. 1995 December 10-15; Indianapolis, IN. Washington, DC: American Entomological Society. P 40. Abstract number PP409.

Technical Report: Author AB (performing organization). Date of Publication. Title of report. Place of publication: Publisher or abbreviation of sponsoring organization. Report number. Contract number. Total number of pages. Availability statement.

Saleem AC (Malaria Research Center, Thai Council of Medical Research). 1982. The Anopheles of Thailand. Bangkok: TCMR. CR501. 45 p. Available from Malaria Research Centre, 3 Knitting Road, Chichester, United Kingdom.

Dissertation or Thesis: Author. Date of degree. Title [type of publication]. Place of institution: institution granting the degree. 00p. Availability statement, if applicable.

Crocker B. 1965. Tribal participation in mosquito control in a central Indian village [Ph.D. dissertation]. Louisiana State University, Baton Rouge, 602 p.

Internet Materials

Journal Articles

Cywinska A, Hunter FF, Herbert PDN. 2006. Identifying Canadian mosquito species through DNA barcodes. *Med Vet Entomol* [Internet] 20:413-424. [accessed May 4, 2007]. Available from:
http://www.bolinfonet.org/pdf/Cywinska_et_al2006_Identifying_Canadian_species_through_DNA_barcodes.pdf.

Technical Report

NYCDOH [New York City Department of Health]. 2001. Adult mosquito control programs: draft environmental impact statement (DEIS) [Internet]. Available from the New York City Department of Health, New York [accessed May 4, 2007].
<http://home2.nyc.gov/html/doh/html/wnv/deis.shtml>.

Web site

U.S. Geological Survey. 2007. Disease maps 2006. West Nile Virus maps—human [Internet]. Reston, VA: US Geological Survey [accessed May 4, 2007].
http://disasemaps.usgs.gov/wnv_us_human.html.

Give sources, (Name of Company, City, ST or Country: e.g., SAS Institute, Inc. Cary, NC) for all chemical agents, materials or instruments; also note products with registered trademarks ® upon first use. For more detailed information on style and format, authors may consult the CSE Manual.

Tables

Tables should be used sparingly and should be self explanatory. Each table should be typed double-spaced on its own page, and all acronyms should be explained in a footnote. Preparation of line illustrations should follow the guidelines outlined in the

CSE Manual. Only high-quality, computer-generated graphs will be accepted. Keys to symbols used in the figure should be included on the figure itself as artwork. Authors may be charged if artwork needs to be made to match the figure caption. Photographs should be glossy prints with sharp focus and good contrast. Changes made to illustrations at the proof stage are costly, and may be charged to the author.

Notes

Preliminary studies and significant observations may be submitted as Operational Notes or as Scientific Notes. The notes may contain 1 or 2 tables or illustrations, and acknowledgments should be included in the last paragraph of the text. There should be an abstract and a list of key words, but a running head need not be provided. Section headings are not used. Notes are usually ½ to 2 printed pages in length (2-8 manuscript pages).

After Peer Review

Following peer review, authors are strongly urged to submit their revised manuscripts by e-mail to the editor in Microsoft Word format (edjamca@csusb.edu), or by uploading it at

<http://jamca.allentrack2.net>. Remove all special formatting from the electronic file, including multiple columns, special paragraph styles, automatic page numbering and referencing, and multiple type fonts, sizes, and characteristics.

Figures and tables may be saved in separate files. Figures must be in TIFF, EPS, PICT, or PCX formats. Extensive instructions for preparing electronic manuscripts can be found in the How To's pages of Allen Press's web site at www.allenpress.com. Click on the FAQ's and How-To's link from the Resources drop-down menu on the home page.

Page Charges

Page charges are made for each printed page (Approximately 4 manuscript pages), with the exclusion of Book Reviews and Obituaries. Papers are accepted for publication with the understanding that the \$70.00 USD per page charge will be paid by the author or his or her agency to defray a portion of the cost of publication. Separate purchase orders may be issued for page charges and reprints; however, we prefer that they be combined. The reprint order form, a pdf which is mailed with the galley proofs contains further information about placing orders, paying for page charges, and reprint charges. Authors should inform the editor whether page charges will be paid by their sponsoring organization or by the author personally. At least 1 author of each submitted manuscript must be a member in good standing of the AMCA. Questions regarding billing or membership should be sent to amca@mosquito.org.

Proofs

Authors are expected to read proofs carefully, make corrections, answer queries, and return proofs promptly to the Managing Editor, Rita A. Janssen, 810 East 10th Street,

Lawrence, KS 66044-0368, USA. Phone: 785-843-1234, ext 137; Fax: 785-843-1244;
e-mail:
rjanssen@allenpress.com

Usage of Abbreviations

Source: Bickley WE, Ward RA. 1989. Selected list of abbreviations and symbols used in the Journal of the American Mosquito Control Association. J Am Mosq Control Assoc 5(2):304.

Refer to the following list for accepted abbreviations and symbols and to the Usage of Scientific Names section for appropriate abbreviations.

about (circa) ca	liter spell out
acre spell out	mean \bar{O}
active ingredient AI	meter m
and others et al.	microgram μg
centimeter cm	mile mi
chi square χ^2	miles per hour mph
compare cf.	milliliter ml
cubic centimeter cc	minute min
cubic foot ft ³	number no.
cubic meter m ³	number (statistical) n
cubic millimeter mm ³	ounce oz
cubic yard yd ³	per (with numerals) /
day spell out	percent %
diameter diam	pound lb
dosage mortality DM	pounds per square inch psi
dozen doz	probability P
emulsifiable concentrate EC	quart qt
feet per second ft/sec	relative humidity RH
figure Fig.	second sec
fluid ounce fl oz	significant at 1% level **
foot or feet ft	significant at 5% level *
gallon gal	square centimeter cm ²
gram g	square inch in. ²
granules, granular G	square mile mi ²
hectare ha	square millimeter mm ²
hour h	square yard yd ²
inch in.	ultra-low volume ULV
kilogram kg	week wk
kilometer km	yard yd

Other acceptable abbreviations include: e.g., i.e., et al., in vivo, in utero, per se, sensu stricto, sensu lato, s.s., s.l., ca., per os, ELISAs, US, USA, PO, DC, Inc., Ltd., Co., p.m., s or s (Standard deviation), S0 (standard error of the mean), CV, df, ns, and Univ. (University is only spelled out if part of a university name in a thesis reference.)

Use of Scientific Names

The Walter Reed Biosystematics Unit (WRBU) is a unique national and international resource, located at the Smithsonian Institution in Washington, DC, whose mission is to conduct systematics research on medically important arthropods and to maintain an on-line Catalog of the Mosquitoes of the World.

Scientific names for genera and species of mosquitoes should follow usage of the WRBU web site: <http://www.mosquitocatalog.org/main.asp>

Mosquito taxonomists and other researchers who believe that use of the standard scientific names for mosquitoes as recommended by the WRBU infringes upon their freedom of scientific thought may use other nomenclatures with permission of the Editor and the Editorial Board.

Generally, the format for using taxonomic names not recommended by the WRBU web-site would follow guidelines presented in the *Journal of Medical Entomology* (2005) 42:511. However, the Editor reserves the privilege to deny or accept any non-WRBU recommended nomenclature, to establish format and to require additional justification.

The scientific name of a species should be spelled out in its entirety the first time it is used in a title, abstract, or the text. Thereafter, the appropriate generic abbreviation may be used. When 2 or more species of the same genus are listed consecutively, the genus may be abbreviated for all names after the first entry. Sentences should begin with the complete generic name. Subgeneric names may be presented in italicized parentheses on first usage and in Tables if space permits.

Author names of species are not used in either the title or the abstract. In the text, they should be mentioned the first time a species is cited. The names of well-known authors may be abbreviated as follows: Coquillett = Coq., Fabricius = Fabr., Linnaeus = L., and Wiedemann = Wied. Contributors to the Journal should be aware of the proper use of parentheses around the species author's name. Parentheses designate that the generic name or generic assignment for that species has changed since the original description. Author usage can be verified on the WRBU web site:

<http://www.mosquitocatalog.org/search.asp>

Abbreviations used for genera and subgenera of Culicidae are provided below and follow recommendations on the WRBU web site:

<http://www.mosquitocatalog.org/abbreviation.htm>

It is not necessary to use "Diptera: Culicidae" in the title or a footnote. However, the writer should use "Diptera: Ceratopogonidae," etc., for other families of biting flies.

ANNEXE 2

Preuve de soumission de l'article

Lal S. Mian, Ph.D.
Editor, Journal of the American Mosquito Control Association
Department of Health Science & Human Ecology
California State University
San Bernardino, CA 92407-2393

Dr Miam,

You will find attached a manuscript that I would like to submit to JAMC. Since the submission of a manuscript is a requirement for Stéphanie Moreau M Sc thesis, I would like to receive an acknowledgment for this submission.

Both the original manuscript and the letter or email stating that the editor of JAMCA has received the said manuscript will be included in the thesis.

Yours truly

Jacques Boisvert

NB note: nouveau courriel, new email jacques.boisvert@uqtr.ca

Jacques Boisvert, Ph D
Département Chimie-Biologie
Université du Québec à Trois-Rivières
3351 blvd Des Forges
C.P. 500, Trois-Rivières
Québec, Canada
G9A 5H7

Tel: (819) 376-5011 ext 3372

ANNEXE 3

Contribution spécifique des auteurs

Jacques Boisvert est l'initiateur du projet. En tant que directeur de recherche, il a aidé à monter le projet de recherche. Il a également aidé à l'analyse des résultats et à la rédaction de l'article scientifique.

En tant qu'étudiante à la maîtrise, j'ai monté le projet de recherche. J'ai effectué la collecte de données sur le terrain lors de deux étés. J'ai également fait l'identification des moustiques au laboratoire. J'ai fait la saisie de données et les analyses des résultats. Finalement j'ai rédigé l'article scientifique avec l'aide de Jacques Boisvert.

Mathieu Langevin a participé à la collecte de données à l'été 2009. Il a également participé à l'identification des moustiques à l'automne 2009.